

DOKTORI ÉRTEKEZÉS

A krónikus enyhe stressz kiváltotta viselkedésváltozások vizsgálata patkányban

Kompagne Hajnalka

Egis Gyógyszergyár NyRt.

Viselkedésfarmakológiai Laboratórium

Témavezetők: dr. Bárdos György

egyetemi docens, a biológiai tudományok kandidátusa, habilitált doktor

dr. Lévay György

főosztályvezető-helyettes, az orvostudományok kandidátusa

Biológia Doktori Iskola

Vezetője: dr. Erdei Anna, az MTA doktora, egyetemi tanár

Idegtudomány és humánbiológia Doktori Program

Programvezető: dr. Détári László, tanszékvezető egyetemi tanár

Budapest, 2008.

Tartalomjegyzék

A DOLGOZATBAN HASZNÁLT RÖVIDÍTÉSEK	2
BEVEZETÉS.....	3
IRODALMI ÁTTEKINTÉS	5
KÍSÉRLETI MUNKA ÉS MUNKAHIPOTÉZISEK	27
CÉLKITŰZÉSEK.....	32
MÓDSZEREK ÉS ANYAGOK.....	33
A KRÓNIKUS ENYHE STRESSZ MODELL BEÁLLÍTÁSA	40
A KRÓNIKUS ENYHE STRESSZ HATÁSA A KÜLÖNBÖZŐ TESZTEKBEN MÉRHETŐ VISELKEDÉSRE.....	48
ANTIDEPRESSZÁNS ÉS SZORONGÁSOLDÓ KEZELÉS HATÁSÁNAK VIZSGÁLATA	63
AZ IVÁSI TELÍTŐDÉS ÁLTAL KIVÁLTOTT DISZKOMFORT VIZSGÁLATA KRÓNIKUS ENYHE STRESSZ UTÁN	75
AZ EREDMÉNYEK ÖSSZEFOGLALÁSA.....	81
MAGYAR NYELVŰ ÖSSZEFOGLALÓ.....	83
SUMMARY	84
FÜGGELÉK	85
IRODALOMJEGYZÉK.....	89
SAJÁT PUBLIKÁCIÓK	110

A dolgozatban használt rövidítések

5-HT	szerotonin
AMPA	α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-izoxazol propionsav
AS	abszolút cukorfogyasztás (absolute sucrose)
BDNF	agyi növekedési faktor (brain derived neurotrophic factor)
BNO	Betegségek Nemzetközi Osztályozása
BNST	nucleus interstitialis striae terminalis (bed nucleus of the stria terminalis)
CMS	krónikus enyhe stressz (chronic mild stress)
CREB	cyclic AMP-responsive element-binding protein
CRF	kortikotropin releasing faktor
DSM	Mentális Betegségek Diagnosztikai és Statisztikai Kézikönyve (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders)
ECT	elektrokonvulzív terápia
GAD	generalizált szorongás zavar (generalized anxiety disorder)
HPA	hipotalamusz-hipofízis-mellékvese
ip.	intraperitoneálisan, hashártyába adagolva
LTD	szinaptikus hatékonyság csökkenése (long term depression)
MAO	monoamin-oxidáz
NK	neurokinin
NMDA	N-metil-D-aszpartát
NRI	noradrenalin-visszavétel gátló (noradrenaline reuptake inhibitor)
PTSD	poszttraumás stressz rendellenesség (posttraumatic stress disorder)
PVN	a hipotalamusz paraventrikuláris magja
REM	gyors szemmozgások (rapid eye movements)
SAD	szociális szorongás (social anxiety disorder)
SCN	suprachiazmatikus mag
sec	másodperc
SNRI	szerotonin- és noradrenalin-visszavétel gátló (serotonin-noradrenaline reuptake inhibitor)
SP	cukorpreferencia (sucrose preference)
SPRD	Sprague Dawley
SSRI	szelektív szerotonin-visszavétel gátló (selective serotonin reuptake inhibitor)
WHO	Egészségügyi Világszervezet (World Health Organization)

Bevezetés

A depresszióról röviden

A depresszió krónikus, többnyire ismétlődő epizódokból álló, potenciálisan életveszélyes betegség, amely egyes becslések szerint a Föld lakosságának 20%-át is érintheti. A WHO felmérése szerint a tíz leggyakoribb betegség- és halálok között szerepel világszerte (Berton és Nestler 2006). Kopp vizsgálatai szerint a depresszív jellegű tünetek a magyar lakosság igen jelentős hányadára (akár 25-30%-ára is) jellemzőek (Kopp 1977), ez az adat azonban nem magára a betegségre, hanem a tünetekre vonatkozik. Érdemes lenne az epidemiológiai vizsgálatokban szigorúan elkülöníteni a depresszió betegséget a depresszív állapottól (bármilyen nehéz is ez) (Bárdos 2008).

Örökölhető, meglehetősen magas (40-50%-os) genetikai kockázattal, de a háttérben álló géneket nem ismerjük. A maradék 50-60%-ért felelős környezeti kockázati tényezők sem jól definiáltak, szerepel köztük a stressz, gyermekkori traumák, betegségek, vírusfertőzés és számos egyéb (Berton és Nestler 2006).

Diagnosztikáját illetően semmivel sem vagyunk könnyebb helyzetben, mint amikor az okokat keressük. Mivel a betegség etiológiája nagyon kevésbé ismert, a taxonómiát nem lehet molekuláris vagy patofiziológiai alapokra építeni. A diagnózis és a kezelés egységének megtartásához olyan útmutatókra kell hagyatkozni, mint a DSM-IV vagy a BNO-10. Ezek általában nehezen kezelhetők és korántsem tökéletesek. Mindkét rendszer a legjellemzőbb klinikai tünetek bizonyos idejű megléte alapján állítja fel a diagnózist, feltételezve, hogy egyéb okok kizárhatók. Mindkét rendszer magában foglalja a tünetek heterogenitását. A diagnózis felállításához nem szükséges ismerni a tünetek kialakulásának okát és módját (1. ábra).

A tünetek nagymértékben heterogének. A sokféle tünet és a betegség lefolyásának különbözősége minden bizonnyal eltérő etiológiával és patofiziológiával magyarázható. Célravezető lenne a diagnosztikában a hangsúlyt a komplex viselkedésformák helyett az endofenotípusokra, a szindrómát felépítő elemekre helyezni.

A diagnosztikai útmutatók természetesen elkülönítik a betegség altípusait, ám ezek még mindig többféle, sokszor ellentétes tünetet foglalnak össze.

Dolgozatomnak nem célja a depresszió klinikai aspektusainak vizsgálata, ezért a továbbiakban csak röviden foglalom össze azokat a humán vonatkozásokat, amelyek a krónikus enyhe stressz modell elemzéséhez szükségesek lehetnek - természetesen nem tévesztve szem elől, hogy az állatkísérletes munka legfőbb célja a betegség alaposabb megismerése és a hatékony gyógymódok kifejlesztése.

1. ábra. A DSM-IV kritériumrendszere a major depresszív epizód diagnózishoz (BNO-10 zsebkönyv, 2002)

A DSM-IV kritériumrendszere a major depresszív epizód diagnózishoz

- A A következő tünetekből öt (vagy több) áll fenn egy kéthetes periódus alatt, és ezek a korábbi tevékenység megváltozásaként jelennek meg, az első két tünetből legalább egy, vagy az (1) depresszív hangulat, vagy a (2) érdeklődés vagy öröm elvesztése szükséges a diagnózishoz. [Figyelem! Nem számítjuk a tünetek közé azokat, amelyek egyértelműen az általános egészségi állapot következményei, ill. a hangulathoz nem illő hallucinációkat és téveszméket.]
- (1) A nap legnagyobb részében és csaknem minden nap levert hangulat, amelyet az egyéni beszámoló (pl. szomorúság vagy üresség érzése) vagy mások megfigyelései (pl. könnyezni látják) jelez. Figyelem! Gyerekeknél vagy serdülőknél elegendő az ingerült hangulat jelzése.
 - (2) Az érdeklődés és öröm jelentős csökkenése minden vagy majdnem minden tevékenységben a nap túlnyomó részében és majdnem minden nap (akár szubjektív beszámoló, akár mások megfigyelése).
 - (3) Jelentős súlycsökkenés- vagy gyarapodás (havonta a testsúly 5%-át elérő változás) diétázás nélkül, vagy az étvágy jelentős csökkenése/növekedése csaknem minden nap (gyermekekben a súlygyarapodás elmaradása).
 - (4) Insomnia vagy hypersomnia minden nap.
 - (5) Motoros agitáció vagy gátoltság csaknem minden nap (mások megfigyelése, nem elegendő csupán a nyugtalanság vagy meglassultság szubjektív érzete).
 - (6) Fáradtság vagy anergia csaknem minden nap.
 - (7) Értéktelenség érzete vagy kifejezett, ill. inadekvát önvádolás/bűntudat, akár téveszmés fokban is, szinte minden nap (nem pusztán a beteg-lét miatti lelkiismeretfurdalás vagy bűntudat).
 - (8) Csökkent gondolkodási, összpontosítási vagy döntési képesség szinte minden nap (akár szubjektív élmény, akár mások megfigyelése).
 - (9) A halál gondolatával való gyakori foglalkozás (nem csak halálfélelem), visszatérő öngyilkossági gondolatok konkrét terv nélkül vagy öngyilkossági kísérlet vagy konkrét öngyilkossági terv.
- B A tünetek nem elégítik ki a kevert epizód ismérveit.
- C A tünetek klinikailag jelentős szenvedést vagy a szociális, foglalkozási vagy egyéb fontos működések romlását okozzák.
- D A tünetek nem kémiai anyag (pl. visszaélésre alkalmas szer, gyógyszer) vagy általános egészségi állapot (pl. hypothyreoidizmus) közvetlen élettani hatásainak tulajdoníthatók.
- E A tünetek nem magyarázhatók jobban gyászreakcióval (azaz egy szeretett személy halálát követően két hónapot meghaladóan is fennállnak) vagy észrevehető funkcionális károsodást jeleznek (beteges érdektelenség-tudat, öngyilkossági gondolatok, pszichotikus tünetek vagy pszichomotoros retardáció).

Irodalmi áttekintés

Depresszió, szorongás, stressz

Hagyományosan a szorongást és a depressziót két elkülöníthető állapotnak tartják, kezelési módjuk is eltérő, de a szorongásos megbetegedésekben (generalizált szorongás zavarban, pánikbetegségben, specifikus fóbiákban, stb.) szenvedőknek sok tünetük közös a depresszió diagnózist kapott betegekével. Ugyanakkor egyes felmérések szerint a depresszióban szenvedők 60%-a számolt be valamilyen szorongásos tünetről (Keller és Hanks 1995). Amerikai vizsgálatok eredménye szerint a depresszióval komorbid lehet a szociális fóbia (27%), poszttraumás stressz rendellenesség (PTSD, 19%), generalizált szorongás (GAD, 17%) és a pánikbetegség (10%) is (Kessler és mtsai 1996). Azoknak a betegeknek, akiknek életében előfordult depressziós epizód, igen nagy része (61%) számolt be arról, hogy a depressziót megelőzően már szenvedett pszichés/mentális zavartól (Kessler és mtsai 1996). A teljes élettartamra és az elmúlt 12 hónapra vonatkozó feleletek alapján a depresszió leggyakrabban a generalizált szorongás zavarral fordult együtt elő. Többen valószínűsítik, hogy a stressz, illetve a stressz hatására megélt szorongás direkt vagy indirekt okozati összefüggésben állhat a depresszió kifejlődésével (Anisman és Zacharko 1982, Brown 1993). A felnőttkori depresszió megjelenése vagy a beteg állapotának romlása gyakran köthető akut negatív életeseményhez vagy folyamatos stressz terheléshez (Hammen és mtsai 1992). Disztimiás betegek állapotát a stressz major depresszióvá súlyosbíthatja (Griffiths és mtsai 2000).

A fenti számok alapján inkább szabálynak, mintsem kivételnek tekinthetjük a depresszió és a szorongás együttes előfordulását (Ballenger 1999, Ninan 1999), ami valószínűsíti, hogy a két külön betegségként számontartott zavar vagy közös neurobiológiai eredetű, de eltérő megjelenési formájú, vagy az egyik (a depresszió) a másikkól (a szorongásból) következik, következhet (Kasper 2001).

Ugyanakkor nem hagyhatjuk figyelmen kívül, hogy a stresszt átélő emberek többsége nem lesz depressziós beteg, ezért a szerzők egy része nem tekinti bizonyítottnak a stressz és a depresszió közötti egyenes kapcsolatot, illetve azt, hogy a stressz *per se* depressziót indukálhat egészséges emberekben (Berton és Nestler 2006).

A stressz hatása függ a stresszor minőségétől (erősség, időtartam, kiszámíthatóság), az egyén stressztűrő képességétől és stressztörténetétől. A depressziót megelőző időszak

stressztörténetében éppúgy szerepelhetnek súlyos életesemények, mint enyhe, mindennapos kellemetlenségek. Lehetséges, hogy maga a depresszió, vagy a vele járó negatív percepció is generál stresszreakciót (Rudolph és mtsai 2000). A depressziós magatartás egészen biztosan provokál olyan szociális kontaktust, amely súlyosbítja a betegség affektív és kognitív folyamatait (Hammen és mtsai 1995). Feltételezik azt is, hogy a depressziós betegek nem tapasztalnak több stresszt, mint azok, akik nem betegszenek meg, viszont sokkal erőteljesebben reagálnak rá. Szintén elképzelhető, hogy egy korai epizódot stresszhelyzet váltott ki, majd megindultak olyan neurokémiai változások, amelyek később már önmagukban elegendőek lehetnek egy újabb epizód kialakulásához, vagy a betegség súlyosbodásához (Kendler és mtsai 2000, Solomon és mtsai 2000). Lazarus szerint a stresszre adott pszichés válasz attól függ, hogy kontrollálhatónak, illetve mennyire kontrollálhatónak értékeljük a stresszhelyzetet (Lazarus 1993). A kontrollálhatatlanság érzete rontja a megküzdés sikerét, de csak a feldolgozatlan vagy kontrollálhatatlan stressz okoz mentális terhelést. Azokat a faktorokat, amelyek befolyásolhatják a stresszre adott viselkedésválaszt, az 1. táblázatban foglaltam össze.

1. táblázat. A stresszválaszt befolyásoló tényezők

A stresszválaszt befolyásoló tényezők	
stresszor típusa	idegrendszeri (neurogén vagy pszichogén) szisztémás
a stresszor jellegzetességei	kontrollálhatóság előrejelezhetőség bizonytalanság, értelmezési probléma krónikus jelleg szakaszosság
egyedi variabilitás	életkor nem
tapasztalatok	korábbi stressztapasztalatok (szenzitizáció) korai életesemények (pl. anyai tényezők, traumák)
személyes jellemzők	stressztűrés önbecsülés személyiség (pl. optimizmus, szorongási szint) egyéb
szociális helyzet	támogatás kötődések

A depresszió hátterében álló agyi mechanizmusokról

A betegség megjelenését kiváltó pontos agyi mechanizmus a mai napig ismeretlen. A tünetek olyan számosak és sokfélék, hogy tulajdonképpen nem is betegségről, hanem tünetcsoportról, szindrómáról kellene beszélnünk. Nyilvánvalóan egészen más mechanizmus húzódik meg a koncentrálóképeség romlása vagy a pszichomotoros agitáció (esetleg ellentettje, a pszichomotoros retardáció) mögött. A rendelkezésünkre álló gyógymódok hatásmechanizmusa sem tisztázott, ráadásul ezek sikeressége személyenként és depressziótípusonként nagyon eltérő. Az irodalomban nincs konszenzus a betegség neurális hátteréről.

A tünetek sokfélesége azt bizonyítja, hogy az agy számos régiója érintett a hangulati betegségekben. Embereken képalkotó eljárásokkal és autopsziával végzett kutatások szintén ezt támasztják alá (Drevets 2001, Mayberg 2003; Rajkowska 2003).

A frontális kéreg és a hippokampusz szerepe a depresszió kognitív tüneteiben - mint pl. a memória romlása, eltúlzott büntudat, értéktelenség, reménytelenség érzete - bizonyított. A striátum (különösen a nucleus accumbens) és az amygdala fontos szerepe, hogy közvetíti az érzelmi ingerekre adott averzív és pozitív válaszokat, így szerepük lehet a legtöbb depressziósra jellemző anhedónia, szorongás és csökkent motiváció kialakulásában. A hipotalamusz érintettségét bizonyítja a neurovegetatív tünetek jelenléte: az étvágy változásai, anergia, csökkent szexuális vágy, az aluszékonyság vagy inszomnia.

Az 1960-as években kidolgozott *monoamin hipotézis* (Bunney és Davis 1965, Schildkraut 1965) szerint a betegség oka a központi idegrendszer monoamin rendszereinek hibás működése, azaz a szerotonerg, noradrenerg vagy dopaminerg transzmisszió zavara. A monoaminszintek változását okozhatja a szintézis, a tárolás vagy a felszabadulás hibája, de lehetséges az is, hogy a koncentrációk normálisak, ám a poszt-szinaptikus receptorok és/vagy a hozzájuk kapcsolódó másodlagos hírvivők aktivitása megváltozott. Eszerint a depresszió kezelése során hozzáférhetőbbé kell tenni a monoaminokat, ami megvalósítható a neurotranszmitterek visszavételének gátlásával a szinapszisban, gátolható a monoaminok metabolizmusa a neuronon belül, vagy blokkolhatóak a preszinaptikusan elhelyezkedő, gátló hatású auto- és heteroreceptorok (Blier és Ward 2003, Hensler 2003). A hipotézis alapját a (véletlenszerűen felfedezett) korai antidepresszánsok mechanizmus kutatásai szolgáltatták.

A monoaminok a depresszió legtöbb központi tünetét befolyásolják. A szerotonerg rendszer a dorzális és kaudális raphe magvakból vetül az agy számos pontjába, így a hipotalamuszba, az

amygdalába, a hippocampusba, a kéregbe, a bazális ganglionokba és az agytörzsbe, vagyis minden olyan területre, amely összefüggésbe hozható a kialakuló tünetekkel. A szerotonerg rendszer szerepére meggyőző mennyiségű adat áll rendelkezésre (Ressler és Nemeroff 2000, Risch és Nemeroff 1992, Owens és Nemeroff 1994). A szelektív szerotonin-visszavétel gátlók (SSRI) kedvezőbb mellékhatásprofilja is a szerotonin hipotézist erősítette. Ugyanakkor a triptofán depléciója egészséges egyénekben nem, csak pszichiátriai betegségben szenvedőkben befolyásolja a hangulatot (Benkelfat és mtsai 1994, Carpenter és mtsai 1998). A képet bonyolítja az a tény is, hogy az antidepresszánsok hatása nem akut, csak néhány hetes kezelés után érvényesül.

A noradrenerg rendszer szerepét támasztják alá a triciklikus antidepresszánsokon kívül a szerotonin és noradrenalin visszavétel gátlók (SNRI) sikerei is (Scates és Doraiswamy 2000). A noradrenerg rendszer szerepe fontos a stresszválaszok közvetítésében. A noradrenerg neuronok a laterális tegmentális aréából és a locus coeruleusból kiindulva idegzik be az agy számos területét. A noradrenerg rendszer szerepét az említett gyógyszerek vizsgálatain kívül is számos kutatás igazolja (Ordway 1997, Anand és Charney 2000, Delgado 2000).

Néhány dopaminerg szer hatását bizonyították depresszióban (Slattery és mtsai 2004). Tirozin depletálása után egészséges önkéntesek neuropszichológiai tesztekben hasonló eredményeket produkáltak, mint a depresszióban szenvedő betegek (McLean és mtsai 2004). Ismerte a dopaminerg rendszer szerepét az agyi jutalmazó mechanizmusokban és a motivációban, nem lehet kérdéses, hogy a betegségben ez a rendszer is érintett (Nestler és Carlezon 2006).

Bár a monoamin hipotézis jogosultságához nem férhet kétség, rengeteg kérdést megválaszolatlanul hagy. A monoamin rendszereket befolyásoló gyógyszerek hatékonyak, de hatékonyságuk személyenként és tünetenként nagyon eltérő, viszonylag nagy a rezisztens esetek száma is. Az elmúlt évtizedekben számottevő állatkísérletes és humán információ gyűlt össze a *monoaminerg rendszerek szerepéről* (Manji és mtsai 2001, Drevets 2001, Bissette és mtsai 2003, Charney 2004, Gillespie és Nemeroff 2005).

A hipotalamusz-hipofízis-mellékvese (HPA) tengely túlaktiváltsága nyilvánul meg a kortikotropin releasing faktor (CRF) megnövekedett expressziójában a hipotalamusz területén, a cerebrospinális folyadékban mérhető magasabb CRF-szintben, illetve abban is, hogy a CRF és glükokortikoidok HPA-tengelyre gyakorolt gátló visszacsatolása csökken (Sapolsky 2000, McEwen 2005). Klinikai vizsgálatok arra utalnak, hogy a tengely működésének normalizálása szükséges lehet ahhoz, hogy a depresszió tünetei ne jelenjenek

meg újra. Állatkísérletekből arra következtet a szakirodalom, hogy a túl magas glükokortikoid-szint okozhatja a hippocampusz térfogatának enyhe csökkenését, ami depressziós betegeknél és poszttraumatikus stressz betegségben szenvedőknél figyelhető meg. A CRF neurotranszmitter szerepet tölt be az amygdala és a BNST (bed nucleus of the stria terminalis) területén. Az innen projiciált területeken magasabb CRF-szintet mértek depresszióban (Bisette és mtsai 2003, Gillespie és Nemeroff 2005). CRF-antagonisták klinikai fejlesztés alatt állnak anxiolitikus és antidepresszáns irányban egyaránt. A glükokortikoid receptort célzó molekulák hatása nem egyértelmű: mind az agonisták, mind az antagonisták kiválthatnak antidepresszáns hatást (Wei és mtsai 2004, de Kloet és mtsai 2005, Flores és mtsai 2005).

Az NK₁ receptoron ható P anyag szerepe védekező viselkedésben (Elliott 1988), valamint az a tény, hogy kolokalizáltan fordul elő a monoaminokkal – leginkább a szerotoninnal – valószínűsíti szerepét a depresszió kialakulásában. Bár korábban sikeres kísérletekről számoltak be NK₁ receptor antagonistákkal (Kramer és mtsai 1998), valószínű, hogy ezek az anyagok is a monoamin-rendszeren keresztül hozzák létre az antidepresszáns hatást, így használatuk adjuvánsként képzelhető el (Ryckmans és mtsai 2002, Blier és mtsai 2004).

A *neurotróf hipotézis* alapja, hogy rágcslókban az akut vagy krónikus stressz csökkenti az agyi növekedési faktor (BDNF) expresszióját a hippocampuszban, amit különböző típusokba sorolt antidepresszánsok képesek ellensúlyozni (Duman és mtsai 1997, Duman 2004). Posztmortem humán adatok is vannak arra vonatkozólag, hogy egyes betegek hippocampuszában csökkent a BDNF-szint, míg gyógyszerkezelésben részesült betegeknél illet nem figyeltek meg (Chen és mtsai 2001). Rágcslók hippocampuszába fecskendezett BDNF antidepresszáns hatásának bizonyult erőltetett úszás és tanult tehetetlenség tesztekben, knockout egereken végzett kísérletek azonban nem támasztották alá a hipotézist (Monteggia és mtsai 2004). Valószínű, hogy míg a hippocampuszban a BDNF antidepresszáns hatást közvetít, addig más területeken különböző, akár éppen ellentétes is lehet a hatása. A ventrális tegmentális area – nucleus accumbens területen a krónikus stressz megemeli a BDNF-szintet, a lokális BDNF-adagolás depressziószerű, a BDNF gátlása pedig antidepresszáns-szerű viselkedést generál (Eisch 2003). Más neurotróf faktorok szerepe is felmerült (Duman 2004).

A *glutamáterg rendszer* dominanciáját ismerve nem meglepő, hogy a különböző glutamáterg receptorokon ható szerek között találni olyat, amelynek antidepresszáns hatása van. NMDA antagonistákról leírták, hogy állatmodellekben antidepresszáns-szerű hatást mutattak és

képesek voltak megakadályozni a stressz kiváltotta morfológiai változásokat a hippocampusban (Paul és Skolnick 2003). AMPA receptor aktiválása a hippocampusban BDNF-expresszió növekedést és gyors neurogenezist eredményezett (Duman 2004). A receptor pozitív modulátorai hatékonyak voltak erőltetett úszás és farokfelfüggesztés tesztben, valamint az SSRI-knél rövidebb latenciával csökkentették a patkányok behódoló magatartását (Alt és mtsai 2005, Swanson és mtsai 2005).

A hangulati betegségek jellegzetes tünete az abnormalis cirkadián ritmus. A depressziós betegek jelentős része a nap elején érzi magát legrosszabbul, állapotuk a nap előrehaladtával általában javul. Az egészséges emberekre is jellemző, hogy hangulatuk, energiaszintjük, motiváltságuk napszaki ingadozást mutat, depresszió esetén ez a jelenség erősen eltúlzott. Bár a cirkadián ritmus szabályozása részleteiben még fel nem tárt terület, tudjuk, hogy a suprachiasmaticus mag (SCN) tekinthető a fő cirkadián ritmusgenerátornak. Több gén és géntermék vesz részt a ritmus kialakításában (pl. clock - Clk, period - Per, cryptochrome-Cry). Újabb adatok szerint ezek a gének és géntermékek az agyi jutalmazó rendszerben is reguláló szerepet játszanak, így pl. a Clk-hiányos egerekben a kokain jutalmazó hatása megnövekedett és a ventrális tegmentális area dopaminerg aktivitása fokozódott. A Clk-mutáns egerek kevesebb depresszióserű viselkedést mutatnak az erőltetett úszás tesztben (McClung és mtsai 2005).

A depresszió rendkívül sokoldalú képet mutató betegség, emocionális, viselkedési és kognitív aspektusokkal. Lehetséges, hogy a különböző tünetek, tünetcsoportok különböző neurobiológiai változások eredményei. Újabb elképzelések szerint nem annyira a neurokémiai egyensúly megbomlása, mint inkább az *információfeldolgozás zavarai* vezethetnek depresszióhoz. A betegség akkor manifesztálódik, ha valamely neuronális alrendszer nem a megfelelő plasztikus adaptív választ adja külső ingerekre. Eszerint az elmélet szerint az antidepresszánsok többsége az idegi összeköttetések olyan plasztikus változását indítja be, amely az információfeldolgozás és a hangulat javulásához vezet (Duman és mtsai 2000). Ebben a folyamatban az intracelluláris információközvetítő kaszkádok regulálása kaphat szerepet (Duman és mtsai 1994). A csökkent neurogenesis szintén hozzájárulhat a depressziós epizódok megjelenéséhez (Jacobs és mtsai 2000). Ilyen típusú változásokról számoltak be állatkísérletben a gyrus dentatus területén stressz hatására (McEwen 2000), valamint depressziós betegeknél a hippocampusban (Malberg 2004, Malberg és Schechter 2005).

A napjainkban használt kezelési módokat foglalja össze a 2. táblázat, amelyen szintén azt látjuk, milyen összetett módon közelíthető csak meg a betegség és gyógyítása.

2. táblázat. A depresszió kezelésében használatos szerek és módszerek

kezelés típusa	hatásmechanizmus
triciklikus antidepresszánsok	a NA és a 5-HT visszavételének gátlása
SSRI-k	a szerotonin visszavételének gátlása
NRI-k	a noradrenalin visszavételének gátlása
SNRI-k	a NA és a 5-HT visszavételének gátlása
MAO-k	a monoamin oxidáz A gátlása
atípusos antidepresszánsok	ismeretlen, bár többnyire van monoamin hatásuk
elektrokonvulzív terápia	az agy nonspecifikus stimulálása
mágneses stimulálás	az agy nonspecifikus stimulálása?
a nervus vagus stimulálása	ismeretlen
pszichoterápiák	pontos mechanizmus ismeretlen
deep brain stimulation	a gyrus cinguli specifikus stimulálása

Rövidítések: SSRI – szelektív szerotonin-visszavétel gátló, NRI – noradrenalin-visszavétel gátló, SNRI – szerotonin- és noradrenalin-visszavétel gátló, MAO – monoamin oxidáz, NA – noradrenalin, 5-HT – szerotonin.

A depresszió állatkísérletes modelljei vagy antidepresszáns szűrőtesztek?

Amikor a depressziót állatkísérletekben kívánjuk vizsgálni, különbséget kell tennünk a modell és a szűrőteszt között. Modellnek tekinthetjük azt, amikor a betegséghez kapcsolódó tünetek széles skáláját hozzuk létre. A modell nagy valószínűséggel alkalmas a betegség mechanizmusainak vizsgálatára, míg szűrőtesztnek az a kísérleti protokoll lehet alkalmas, amely gyorsan, megbízhatóan és egyszerűen kivitelezhető, kimenete az ismert antidepresszánsok esetén azonos (Anisman és Merali 1997). Természetesen a szűrőtesztnek is rendelkeznie kell prediktív validitással, azaz a még ismeretlen hatásmechanizmusú antidepresszánsoknak is ugyanazt a kimenetet kell eredményezniük, amit a már ismerteknek. Mivel a szűrőteszt mechanizmusa nem feltétlenül azonos a betegségével, sőt, sokszor nem is hasonlít arra, nem tudhatjuk, hogy valóban képes-e szűrni a még ismeretlen hatásmechanizmussal működő szereket. A preklinikai gyógyszerkutatások nagy dilemmája,

hogy vajon alkalmasak-e a jelenleg használatos, monoamin mechanizmusú vegyületekkel validált módszerek arra, hogy valóban új mechanizmusú molekulák hatékonyságát kimutassák. Egyes becslések szerint a betegek kevesebb, mint 50%-a gyógyul meg teljesen (Berton és Nestler 2006), azaz indokolt lenne az új hatásmechanizmusú szerek fejlesztése. Dolgozatom kereteit messze meghaladná a szakirodalomban fellelhető modellek és szűrőtesztek ismertetése, ezért csak a 3. táblázatban foglaltam össze a leggyakrabban használatos módszereket.

3. táblázat. Tesztek és modellek (Berton és Nestler 2006 nyomán)

manipuláció típusa	a vizsgált válasz
akut stresszor (pl. immobilizáció, vízbemerítés, elektromos sokk)	felderítő viselkedés, „despair state” ¹
korai manipulációk (pl. elválasztás az anyától, prenatális stressz)	szociális kontaktusok, „despair state”, felderítő viselkedés, jutalmazó rendszer működése, neuroendokrin változók
krónikus stressz (pl. krónikus enyhe stressz, szociális izoláció, social defeat)	szociális kontaktusok, „despair state”, felderítő viselkedés, jutalmazó rendszer működése, neuroendokrin változók, neurobiológiai és –kémiai változók
lézió (pl. bulbektómia)	felderítő viselkedés, tanulás
monoamin deplécio (rezerpin, triptofán hatására)	felderítő viselkedés, „despair state”, jutalmazó rendszer működése, neuroendokrin változók
az immunrendszer stimulálása (pl. endotoxinnal, citokinekkal)	„despair state”, jutalmazó rendszer működése
pszichostimuláns terhelés (pl. amfetamin megvonás)	„despair state”, jutalmazó rendszer működése

¹ az erőltetett úszás tesztben mérhető passzív állapot

Krónikus enyhe stressz, a depresszió egyik állatkísérletes modellje

A krónikus enyhe stressz protokollt 1987-ben fejlesztették ki Willner és munkatársai azzal a céllal, hogy a depresszió egy olyan modelljét állítsák fel, amely krónikus állapot és teljesíti az állapotmodellek validitási kritériumait. Mivel a depresszió tünetei számosak, sokfélék, és a betegek nagyon eltérő mintázatokról számolnak be, célszerűen egy jellemző tünet kialakítására törekedtek. A DSM-III szerint a depresszió melankolikus altípusának fő diagnosztikus jellemzője az anhedónia kialakulása és tartóssá válása. A jelenleg használatos DSM-IV rendszerben is vezető tünete a depresszióknak. Az anhedóniát Fawcett és munkatársai úgy definiálták, hogy az „bármiféle kellemes állapot (öröm) megélésének csökkent képessége” (“the decreased capacity to experience pleasure of any sort”, Fawcett és mtsai 1983). A krónikus enyhe stressz módszer célja az volt, hogy az anhedónia állapotokban is megjelenő, mérhető megfelelőjét alakítsák ki. Az anhedóniát állapotokban a pozitív megerősítésre, jutalomra adott csökkent válasszal modellezték.

A krónikus stressz okozta depressziószerű állapot megjelenését, illetve a krónikus stressz okozta viselkedésváltozásokat már Willner kísérletei előtt is tanulmányozták, hiszen például a tanult tehetetlenség modell is krónikus, elkerülhetetlen stresszen alapul (Maier és Seligman 1976). A Willner-féle kísérletek közvetlen előzményei a Katz és munkatársai által az 1980-as években publikált vizsgálatok, melyekben a patkányokat egymást követő, erős stresszoroknak tették ki. Az átélt stressz hatására az állatok open-fieldben mérhető viselkedése megváltozott, de ez a változás krónikus antidepresszáns kezeléssel visszafordítható volt. A nem antidepresszáns hatású vegyületek a kísérletekben hatástalanok voltak (Katz és mtsai 1981, Katz és Hersch 1981, Katz és Baldrighi 1982). A Katz által alkalmazott stresszorok igen erősek: szerepelt köztük intenzív elektromos sokk, 48 órás éheztetés és hideg vízbe merítés is. Bár a farmakológiai validálás azt mutatta, hogy a Katz-féle modell előrejelző képessége (predictive validity) jó, tüneti hasonlóság (face validity) is megfigyelhető volt, mert az állatok lokomotoros aktivitása, étvágya, szexuális érdeklődése csökkent és groominggal is kevesebb időt töltöttek, a konstruktív validitás megkérdőjelezhető. Ahogy a legtöbb modell esetén, a kutatók itt is arra alapozták módszerüket, hogy a depresszió kauzális összefüggésben van a stresszrel, vagy még inkább arra, hogy a depresszió mint betegség a stresszre adott maladaptív válasz (Wong és Licinio 2001). Az emberi betegség kialakulását azonban a legritkább esetben előzi meg a kísérleti körülményekhez mérhető intenzitású stressz (még ha nyilvánvalóan nehéz is ilyen összehasonlítást tenni). Ráadásul a kísérletben mért válaszok egy része (elvileg) egyszerű fiziológiás okokkal is magyarázható. Katz és munkatársai nem vizsgálták, hogy

vajon kisebb intenzitású, esetleg rövidebb idejű stresszelési eljárás is elegendő lenne-e a konzisztens viselkedésválasz kiváltásához, pedig ez mind etikai, mind anyagi szempontból lényeges kérdés.

Katz és munkatársainak kísérleteiben figyelték meg azt a viselkedésváltozást, amely a krónikus enyhe stressz mérések kulcspontra lett. A Katz-féle stressz rezsimnek kitett állatok kevesebbet ittak édesítőszerrel ízesített vízből, mint a kontrollok, amit a kutatók azzal magyaráztak, hogy az édes íz a stresszelt állatok számára kisebb hedonikus értékkel bír. Zacharko és munkatársai hasonló megfigyelése volt, hogy elkerülhetetlen talpsoknak kitett patkányoknál megváltoztak a jutalmazó rendszer által kiváltott viselkedésformák (Zacharko és mtsai 1983).

A krónikus enyhe stressz módszer a nevében hordozza a fent leírt stresszelési eljáráshoz képest az egyik legfontosabb különbséget: az alkalmazott stresszt jelentősen enyhítették. Az eljárás azonban hasonló: hosszabb időn (hetek) keresztül teszik ki az állatokat különböző stresszoroknak. Mivel hosszantartó eljárásról van szó, a kialakuló viselkedésváltozások és droghatások akár hetekig is megfigyelhetők. A stresszorok random módon való változtatása kiküszöböli, de legalábbis nagyon lecsökkenti a habituációt, ami gyakran megfigyelhető, ha egyféle (enyhe) stresszort alkalmazunk krónikusan. A stressz protokoll sikerességét annak alapján ítélik meg, hogy kialakul-e az anhedónia, vagyis a stresszelt állatok kevesebbet fogyasztanak-e az egyébként patkányok által kedvelt híg (1-2%-os) cukoroldatból. Mérhető változás következhet be nemcsak a fogyasztott mennyiségben, hanem a cukros oldat iránti preferenciában is (ami kifejezhető a vízhez képest vagy az állatok tömegére vetítve). A változások nemcsak a stresszelési periódus után mérhetők, hanem közben is követhetők. Egyéb viselkedésváltozásokat is leírtak a krónikus enyhe stressz (CMS) következményeként, ezek többnyire az agyi jutalmazó rendszer működésének megváltozását jelezték, de eltéréseket tapasztaltak szorongást keltő helyzetekben és a spontán aktivitásban is. Willner szerint a CMS kiváltotta eltérések hónapokig is megmaradhatnak, de krónikus antidepresszáns kezelés hatására megszűnnek akkor is, ha a kezelés közben az állatokat továbbra is stresszelik (Willner 1997).

Az eredeti stresszelési eljárás során az állatokat 2-5 héten keresztül tették ki stresszoroknak, a stresszorokat sűrűn változtatva (Willner és mtsai 1987). Mások a stresszelést 8-9 hétre is megnyújtották (Papp és mtsai 1996). Az egy hétre eső stresszorok: kétszer 14 óra élelem- vagy vízmegvonás, a ketrec megdöntése 45°-ban kétszer 14 órán keresztül, intermittáló megvilágítás két éjszakán keresztül (fény-sötét váltás kétóránként), kétszer 12 óra nedves almon, kétszer 12 órán át két állat volt egy dobozban, kétszer 12 órányi alacsony intenzitású,

villódzó fényű megvilágítás (stroboszkóp). A stresszorokat random módon, éjjel és nappal is alkalmazták.

A stresszelés időszaka előtt megmérték az állatok cukorfogyasztását, majd ezt folyamatosan monitorozták. Hosszabb (12-20) óra éheztetés és szomjajztatás után az állatok híg cukoroldatot ihattak (egypalackos teszt), illetve választhattak a cukoroldat és víz között (kétpalackos teszt). A folyadékfelvételt általában 24 órán át mérték, de vizsgálták az egy órás ivást is. A tapasztalatok szerint az állatok a krónikus enyhe stressz hatására kevesebb cukros vizet ittak, miközben vízfogyasztásuk nem változott (Willner és mtsai 1987, 1992, Willner 1997).

A krónikus enyhe stressz hatására nemcsak az édes íz iránti preferencia csökken, de romlott az állatok asszociációs képessége olyan helyzetekben, amikor a helyet valamilyen jutalommal kellett társítani. Az averzív helykondicionálásra nem volt hatással (Papp és mtsai 1996). Mikrodiálízis vizsgálatok eredményei szerint a CMS eltérően befolyásolta az averzív és appetitív ingerekre adott dopaminválaszt: az appetitív helyzetekben a válasz nagysága csökkent a kontroll állatokéhoz képest, míg averzív ingerre megnőtt a kontrollhoz képest (Chiara és mtsai 1999, Cuadra és mtsai 2001).

A krónikus enyhe stressz modell validitása

2. ábra. Az állatkísérletes modellek validitása (Lévay György fordítása alapján)

Konstruktív validitás (construct validity): a modell teoretikus alapjai racionálisak, azaz a betegség etiológiája és a modellben mért változást kiváltó mechanizmusok hasonlóak vagy azonosak.

Tüneti hasonlóság (face validity): a modellezett viselkedés, állapot megjelenik a modellben is (azaz a betegség tünetei megfigyelhetők a modellben).

Prediktív validitás (predictive validity): a modellben alkalmazott kezelésre adott válasz hasonló a betegségben alkalmazott kezelésre adott válaszhoz (a modellben megfigyelt válasz előrejelzi a betegség kezelése során megfigyelhető választ).

Mivel a depresszió patomechanizmusa kevésbé ismert, a modellek konstruktív validitása (2. ábra, az állatkísérletes modellek validitásainak definíciója) minden esetben megkérdőjelezhető. A nem kémiai behatással operáló módszerek mindegyike stressz alapú, feltételezve, hogy a depresszió kialakulásában meghatározó szerepe van a negatív

élettapasztalatoknak. Bár epidemiológiai vizsgálatok és egyedi esettanulmányok ezt a feltételezést alátámasztják (Fowels 1992, Anisman és Merali 1997), a stressz és a depresszió neurobiológiai összefüggését még nem ismerjük eléggé. A stresszalapú módszerek ellen felhozható egyik legkomolyabb kifogás, hogy a stressz nyilvánvalóan nem vált ki minden esetben depressziót emberekben, még akkor sem, ha tartósan fennáll vagy extrém mértékű.

Vagyis nehezen várható, hogy egyébként egészséges patkányokban egyszeri, de akár krónikus stresszelés hatására minden esetben kialakuljon egy olyan állapot, amely modellezi a humán betegséget és/vagy alkalmas a betegség gyógyítására használható gyógyszerek vizsgálatára. A krónikus enyhe stressz irodalomban fellelhető ellentmondások egy része talán magyarázható azzal, hogy az állatok törzsenként és egyedenként is nagyon eltérően birkóznak meg a stresszel (Griffiths és mtsai 1992, Willner 1997, Anisman és Merali 1997). A törzsenkénti eltéréseket és a genetikai hátteret több tanulmány is vizsgálta (Konkle és mtsai 2003, Bielajew és mtsai 2003, Pothion és mtsai 2004, Bekris és mtsai 2005, Mineur és mtsai 2006), ezen eredmények alapján nem túlzás azt állítani, hogy az állatok sem egyformán érzékenyek a krónikus enyhe stresszre: még egyazon törzset vizsgálva sem váltható ki minden állatból a depressziószerű állapot, sem anhedónia. Meg kell azonban jegyezni, hogy nagyon kevés olyan tanulmányt találtam, amely szisztematikusan vizsgálná az egyedi különbségeket. Ilyen Harro és munkatársai 1999-es cikke, ahol a testsúly növekedése és az erőltetett úszás tesztben mérhető immobilitás között nem találtak korrelációt, és Gronli és mtsai 2007-es tanulmánya, melyben negatív korrelációt mutattak ki a cukorfogyasztás és a REM alvás mennyisége, valamint a cukorfogyasztás és az extracelluláris szerotonin hippocampusban mért szintjei között (Harro és mtsai 1999, Gronli és mtsai 2007). Fontos szisztematikus elemzést végeztek Strekalova és munkatársai *egereken* (ld. később, Strekalova és mtsai 2004).

A krónikus enyhe stressz módszer természetéből adódóan nehezen kivitelezhető, az eredmények olykor nem reprodukálhatóak. Számos szerző számol be kudarcról vagy inkonzisztens eredményekről (Matthews és mtsai 1995, Psychopharmacology 134: a téma összefoglalója 1997-ben, Statham 1997, Murison és Hansen 2001, Haile és mtsai 2001, Lin és mtsai 2002, Haidkind és mtsai 2003). Ezek egy része metodikai jellegű probléma, más esetekben azonban a szerzők szerint a modell hibája, vagy az eredmények eltérő interpretációja (Reid és mtsai 1997).

Willner 1997-es elemzésében a modell **konstruktív validitását** erősnek ítélte, mivel szerinte a cukorfogyasztás tükrözi a jutalmazó rendszer szenzitivitásában bekövetkező változásokat (azaz az emberek esetén anhedóniának definiált jelenséget), a CMS pedig a jutalmazó

rendszer működését változtatja meg általában, nem specifikusan az édes ízre adott választ (Willner 1997).

A cukorfogyasztás csökkenését nem kísérte a vízfogyasztás csökkenése (Muscat és Willner 1992, Grippo és mtsai 2003), ezt kétpalackos tesztekben is igazolták (Sampson és mtsai 1991, Pucilowski és mtsai 1993, D'Aquila és mtsai 1997a). A kalóriamentes szacharinra az állatok ugyanúgy válaszolnak, mint a szacharózra (Willner és mtsai 1987, Pucilowski és mtsai 1993), a legtöbb vizsgálat szerint a cukorfogyasztás csökkenésének nem a testsúlycsökkenés az oka (Griffiths és mtsai 1992, Cheeta és mtsai 1994 Dauge és mtsai 1996). Krónikus antidepresszáns kezelés Willner és munkatársai szerint helyreállítja a cukorfogyasztást, de nem korrigálja a CMS hatására bekövetkezett súlycsökkenést (Willner és mtsai 1987). Más viselkedéstervezési eredményei is az agyi jutalmazó mechanizmusok változásait jelzik. A ventrális tegmentális területre implantált elektródák segítségével kimérték, hogy krónikus enyhe stressz hatására megnőtt a jutalmazó agyi stimulációhoz szükséges küszöb (Moreau és mtsai 1992, 1995, Nielsen és mtsai 2000). Az appetitív helykondicionálás változásait is több kutatócsoport vizsgálta, eredményeik szerint a CMS-en keresztyülment állatok nem, vagy alig képesek a jutalmat valamilyen hellyel asszociálni (Benelli és mtsai 1999, D'Aquila és mtsai 1997b Valverde és mtsai 1997). Más appetitív reakciók is károsodhatnak (Gambarana és mtsai 1999, 2001, Tannenbaum és mtsai 2002, Phillips és Barr 1997).

Tüneti hasonlóság. Egyéb depressziószerű tüneteket is megfigyelhetünk a krónikus enyhe stressznek kitett állatokon. Leírtak csökkent szexuális aktivitást (D'Aquila és mtsai 1994, Brotto és mtsai 2001, Gronli és mtsai 2005), csökkent agressziót hímekben és anyákban (Pardon és mtsai 2000, Gambarana és mtsai 2001), csökkent motoros aktivitást (Gorka és mtsai 1996, Grippo és mtsai 2003), de hiperaktivitást is (Harris és mtsai 1997, Gronli és mtsai 2005, Mineur és mtsai 2006). Az alvási mintázat megváltozott, pl. nőtt a REM epizódok száma, az alvás fragmentáltabb, a REM-alvás latenciája csökkent (Cheeta és mtsai 1997, Gronli és mtsai 2003). A napszakos ritmus fáziseltolódását (az aktív periódus előbb kezdődik) figyelték meg Gorka és munkatársai (Gorka és mtsai 1996), míg D'Aquila arról számolt be, hogy a tünetek az aktív periódus elején a legrosszabbak (D'Aquila és mtsai 1997a). Az önápoló viselkedés elhanyagolására utalnak azok az irodalmi források, melyek a szőrzet minőségének romlását írták le (Pothion és mtsai 2004, Yalcin és mtsai 2005), vagy magának a groomingnak a csökkenését (D'Aquila és mtsai 2000, Ducotet mtsai 2003). Bár a Porsolt teszt tekinthető szorongást keltő helyzetnek, hiszen az állatnak egy szűk hengerben kell úsznia, a CMS irodalomban sem a szorongás tüneteként, hanem depressziószerű állapotra

utaló jelként interpretálják, ha a hengerben mozdulatlanul töltött idő megnő (Willner 2005) (ahogyan ezt a tesztet nem is szorongáscsökkentők, hanem antidepresszánsok szűrésére használják.) A stresszelt állatok a legtöbb szerző szerint kevesebbet mozognak a Porsolt tesztben (Garcia-Marquex és Armario 1987, Molina és mtsai 1994, Fujisaki és mtsai 2002, Bielajew és mtsai 2003, Strekalova és mtsai 2004). Létezik adat arra vonatkozólag, hogy a grooming és a Porsolt tesztben mérhető aktivitáscsökkenés között összefüggés van (Griebel és mtsai 2002a). Harro és munkatársai arról számoltak be, hogy CMS hatására az *immobilitás* csökkent. Mivel ez az eredmény ellentmondott a korábbi irodalmi adatoknak, megvizsgálták a lehetséges okokat, és azt találták, hogy ha a stressznek kitett állatokat egyesével tartották, mint ahogy az a CMS kísérletek során általában szokásos, akkor volt különbség a mozdulatlanul töltött idő tekintetében, ha azonban több állat lakott egy ketrecben, akkor ilyen különbséget nem figyeltek meg (Harro és mtsai 1999). Harro és munkatársainak konklúziója szerint a krónikus enyhe stressz az általuk végzett formában a viselkedésre nem gátló, inkább aktiváló hatással bír. A vizsgálat bizonyította, hogy a tartási körülmények döntő hatással lehetnek a viselkedési kimenetekre.

A HPA-tengely egyes mérésekben hiperaktívnak bizonyult (Muscat és Willner 1992), kortikoszteron hiperszekréciót is leírtak (Ayensu és mtsai 1995, Song és mtsai 2006). Murison és Hansen az eredeti leírás szerint végzett 4 hétnyi krónikus enyhe stressz alkalmazása után a stresszelt állatokban alacsonyabb kortikoszteron szintet mért, mint a kontrollokban. Ugyanez a vizsgálat statisztikailag szignifikáns különbséget talált a cukorfogyasztásban is: a stresszelt állatok *több* cukros vizet ittak, mint a kontrollok, ráadásul az idő előrehaladtával mindkét csoport tagjainak cukorfogyasztása nőtt. A súlygyarapodás tekintetében eredményeik megegyeztek más kutatócsoportok eredményeivel: a stresszelt állatok tömege kevésbé gyorsan nőtt, mint a kontrolloké, sőt egyes időszakokban csökkent is. (A csökkenés oka lehetett, hogy az általuk alkalmazott stresszorok között éheztetés és szomjaztatás is szerepelt.) Ennek megfelelően a testtömegre vetített cukorfogyasztás a CMS állatokban magasabb volt, mint a kontrollokban. Ebben a kísérletben nőstény állatokkal is dolgoztak, esetükben a kép hasonló, bár a cukorfogyasztás a kontrolloknál nem növekedett az idő függvényében, és a testtömegváltozás közötti különbség sem olyan kifejezett, mint a hímekben. A testtömegre vetített cukorfogyasztás viszont a nőstényeknél is magasabb a stresszelt csoportban, mint a kontrollban, ráadásul az idő előrehaladtával egyre nő, míg a kontroll állatoknál nagyjából állandó. A nőstények kortikoszteron szintje szignifikánsan magasabb volt, mint a hímeké, de a nőstényekben statisztikailag szignifikáns volt a stressz hatása is: a CMS csoport kortikoszteron szintje *alacsonyabb* volt, mint a kontrollé. A szerzők nem találtak

magyarázatot arra, hogy a cukorfogyasztás tekintetében miért nem sikerült reprodukálniuk Willner és mások eredményeit, de megemlítik, hogy méréseik összhangban vannak Reid kutatócsoportjának korábban publikált adataival (Matthews és mtsai 1995, Forbes és mtsai 1996, Reid és mtsai 1997). A CMS állatok alacsonyabb kortikoszteron szintjére magyarázatul kínálják, hogy a krónikus enyhe stressz annyira enyhe, hogy talán nem is stresszként, negatív életeseményként kellene értékelnünk, hanem a patkányok amúgy eseménytelen életének gazdagításaként (enrichment), ami az alkalmazkodóképességet nemhogy rontja, de javítja. Lehetséges, de nem valószínű magyarázatként említik, hogy a krónikus enyhe stressz ideje alatt a kortikoszteron szint esetleg olyan magas, hogy funkcionális változásokat indít meg a hippocampusban, aminek eredménye hosszútávon csökkent kortikoszteron szint lesz, mint az egyes humán betegségekben (krónikus fáradtság, PTSD) megfigyelhető. Kevésbé tartják valószínűnek, hogy a krónikus enyhe stressz olyan komoly stresszhelyzet lenne, ami a poszttraumatikus rendellenességre hasonlító állapothoz vezet, mint azt, hogy olyan enyhe stressz, hogy talán nem is stressz – a szó negatív értelmében. A szerzők szerint a tanult tehetetlenség jobb modellje lehet a depressziónak, mivel amellett, hogy jól megfigyelhető, robosztus változásokat indukál a kognitív, motivációs, figyelmi és emocionális folyamatokban, ráadásul megemelkedett kortikoszteron szintet és a HPA-tengely hibás működését is eredményezi (Murison és Hansen 2001).

Az irodalom alapján az immunrendszer zavara nyilvánvalónak látszik krónikus enyhe stressz után (Nogueira és mtsai 1999, Kubera és mtsai 2001, Silberman és mtsai 2002, Edgar és mtsai 2002, Datti és mtsai 2002). Hormonzavarról és az ösztroz-ciklus zavaráról is vannak adatok (Kioukia-Fougia és mtsai 2002, Grippo és mtsai 2005).

Mikrodialízis vizsgálatok szerint a GABA szintje a hippocampusban szignifikánsan csökkent CMS után (Gronli és mtsai 2007), ami összhangban áll más depressziómodellekben (tanult tehetetlenség és bulbektómia) mért GABA diszfunkcióval (Sherman és Petty 1982, Jancsar és Leonard 1984, Borsini és mtsai 1986). Képalkotó eljárásokkal humán méréseket is végeztek, ezek eredménye megerősíti, hogy korreláció lehet a depresszió és a kortikális GABA-szint között (Honig és mtsai 1988).

A prefrontális kéreg dopaminerg és szerotonerg aktivitása fokozódott, a striátum dopaminerg aktivitása csökkent Bekris vizsgálataiban, ezt antidepresszáns kezelés helyreállította (Bekris és mtsai 2005). A hipotalamuszban fokozódott mind a dopaminerg, mind a szerotonerg aktivitás, valamint a szerotonin turnover is. Ismert ennek a területnek a szerepe depresszióban (Joels és de Kloet 1992, Semont és mtsai 1999). A szerotonin 1A kötőhelyek száma csökkent (Grippo és mtsai 2004, Bekris és mtsai 2005).

Különböző neuropeptidek (NPY, galanin) expressziója csökkent CMS hatására a limbikus rendszer területén, míg a P anyagé nőtt (Sergeyev és mtsai 2005). Csökkent a BDNF és a CREB (cyclic AMP-responsive element-binding protein) mRNS-einek szintje a hippocampusban (Song és mtsai 2006).

A neuroplaszticitás változására, facilitált LTD-re (szinaptikus hatékonyság csökkenése) hoz példát Holderbach (Holderbach és mtsai 2007).

Prediktív validitás. A módszer validálása során többféle hatásmechanizmusú drogot is vizsgáltak. Az anhedónia visszafordításában hatékonynak bizonyultak a triciklikus antidepresszánsok (pl. az imipramin, a dezipramin és az amitriptylin; Sluzewska és Szczawinska 1996, Papp és mtsai 1996, Harkin és mtsai 2002, Song és mtsai 2006), az SSRI-k, pl. a fluoxetin és a citalopram (Muscat és mtsai 1992, Marona-Lewicka és Nichols 1996, Montgomery és mtsai 2001, Grippo és mtsai 2006), a szerotonin- és noradrenalin- visszavétel gátló venlafaxin (Millan és mtsai 2001), a noradrenalin-visszavétel gátló maprotilin (Muscat és mtsai 1992), a MAO gátló moclobemid (Moreau és mtsai 1993), a szerotonerg hatású mianserin (Moreau és mtsai 1994), az 5-HT_{2C} receptor antagonista/melatonin agonista agomelatin (Papp és mtsai 2003), stb. A klinikumban használt antidepresszívumok általában alacsony vagy közepes dózisban bizonyultak hatékonynak, a teljes hatás kifejlődéséhez krónikus kezelésre volt szükség.

A cukoroldat fogyasztásának növekedését tapasztalták Papp és mtsai az 5-HT_{1A} agonista buspiron és az antikolinerg hatású atropin (Papp és mtsai 1996), Smadja és mtsai pedig morfin adagolásakor, bár ez utóbbi hatás krónikus kezelés esetén megszűnt (Smadja és mtsai 1995). Hatástalan volt a modellben a klórdiazepoxid (Muscat és mtsai 1992), az amfetamin, a haloperidol (Papp és mtsai 1996) és a risperidon (Willner 1997).

Clomipraminnal kombinált elektroakupunktúra szintén visszaállította a cukorfogyasztás normális szintjét (Yu és mtsai 2007).

Krónikus imipramin kezelés visszafordította a CMS következményeként kialakult neurokémiai változásokat a limbikus területen (Bekris és mtsai 2005).

Krónikus enyhe stressz és szorongást keltő helyzetek

Emelt keresztlabirintus tesztben D'Aquila és munkatársai csökkent szorongást mértek krónikus enyhe stressz után patkányokban (D'Aquila és mtsai 1994).

Találunk adatot fokozott szorongásról is (Maslova és mtsai 2002). Griebel szintén a nyílt karban töltött idő csökkenését mérte, ezt fluoxetin krónikus adagolása ellensúlyozta (Griebel és mtsai 2002b). Különböző egértörzseket összehasonlító vizsgálatokban Mineur és munkatársai azt tapasztalták, hogy a nyílt karban töltött idő nem változott CMS hatására, a belépések száma (vagyis a mozgásaktivitás, mert ebben a változóban a nyílt és a zárt karba történő belépések is benne vannak) viszont törzsfüggetlenül változott (Mineur és mtsai 2006). Egyes törzseknél nem volt különbség, míg másoknál a CMS állatok *aktívabbak* voltak.

Zurita és munkatársai azt vizsgálták, hogy korábbi krónikus vagy akut stressz tapasztalatok hatnak-e az állatok viselkedésére, amikor később averzív helyzetbe kerülnek (Zurita és mtsai 2000). Egyhetes enyhe stressz után egy héttel a kontrollnál szorongóbb magatartást mutattak a stresszelt patkányok. Érdekes eredménye ennek a vizsgálatnak, hogy az egyhetes kezelés után újabb egy héttel nem találtak különbséget a cukorpreferenciában, de ha a cukorfogyasztási teszt előtt kaloda stresszt alkalmaztak, az enyhe stresszen átesett állatok preferenciája csökkent a kontrolléhoz képest.

Pohl 2007-es cikke arról számol be, hogy a krónikus enyhe stressznek sem anxiolitikus-szerű, sem szorongást fokozó hatása nem volt az emelt keresztlabirintus tesztben (Pohl és mtsai 2007).

A két térfél tesztben a világos térfélen töltött idő megnövekedett, ami a szorongás csökkenésére utal (Kopp és mtsai 1999, Ducottet és mtsai 2003). Kísérleteiben a három hetes CMS procedúrán átesett egerek nemcsak a két térfél modellben voltak kevésbé szorongók, hanem egy felderítő viselkedést mérő vizsgálatban is, miközben érdekes módon az alap motoros aktivitásukban csökkenést mértek. Kopp és munkatársai a méréseiket a cukorpreferencia kétpalackos módszerével is validálták, ez pedig azt bizonyította, hogy a CMS a szokásos módon működött, vagyis a stressz hatására a stresszelt egerek cukorpreferenciája csökkent. Krónikus fluoxetin kezelés a viselkedést normalizálta (Kopp és mtsai 1999). Mineur és munkatársainak eredményei más képet mutatnak: a CMS állatok több időt töltöttek a sötét térfélen, vagyis szorongóbbak voltak, míg aktivitásuk nagyobb volt, mint a kontrolloké (Mineur és mtsai 2006).

Szociális interakció tesztben D'Aquila és munkatársai nem mértek változást a szorongás szintjében (D'Aquila és mtsai 1994). Mineur és munkatársai az agresszió fokozódását tapasztalták mind a rezidens - intruder tesztben, mind a ketrectársak között (Mineur és mtsai 2003). A szerzők szerint ez az agressziófokozódás arra utal, hogy a krónikus enyhe stressz alkalmas modellje lehet a depressziós betegekben olykor megfigyelhető irritabilitásnak, agitációnak. Eredményeik ugyanakkor ellentmondanak más kutatócsoportok eredményeinek,

akik csökkent agresszióról számolnak be (D'Aquila és mtsai 1994, Pardon és mtsai 2000, Gambarana és mtsai 2001, Willner 2005). Humán analógiát természetesen mindkét esetre ismertünk.

A porond (open-field) tesztben mért eredmények teljesen ellentmondóak. Találunk példát csökkent aktivitásra (D'Aquila és mtsai 2000, Dalla és mtsai 2005), megnövekedett aktivitásra (Gronli és mtsai 2005) és változatlan aktivitásra is (Duncko és mtsai 2001). Van olyan laboratórium, amely a porond tesztben mérhető változások inkonzisztens voltát emeli ki (Harro és mtsai 1999). Ez a cikk felhívja a figyelmet az állatok tartási körülményeinek fontosságára, mivel attól függően, hogy a patkányok egyesével vagy többesével laktak-e egy ketrecben, eltérő viselkedést mutattak később a tesztekben. Hasonló megfigyelésről számolt be Szemerszky Renáta a napszaki ritmus és a handling vonatkozásában (Szemerszky, szóbeli közlés).

Egyéb aspektusok

Faji különbségek

A krónikus enyhe stressz modellt patkányokra fejlesztették ki, de később egerekre alkalmazható formát is kidolgoztak (Kopp és mtsai 1999). Az alkalmazott stresszorokat illetően az egér módszer különbözik a patkányokon használttól, de patkányokon sem beszélhetünk egységes metódusról. Az elv azonban azonos a kísérletekben: az alkalmazott stresszorok enyhék, nem fájdalmasak, önmagukban nem okoznak tartós viselkedés- vagy biokémiai változást, krónikusan és random módon alkalmazzák őket.

Nemi különbségek

Ismerve a depresszió prevalenciáját férfiakban és nőkben, természetesen adódik a feladat, hogy az eredetileg hím patkányokra kidolgozott modelleket nőtény állatokon is megvizsgáljuk. A nőtény rágeszálókkal való munkának több hátránya is van, például az, hogy az ösztrozsciklus változásai növelik az egyedek közötti variabilitást, és az ismert adatok túlnyomó többsége hímeke vonatkozik, így nehézkes az összehasonlítás. Az irodalom nem

egységes annak megítélésében, hogy rágcslókban is jelen van-e olyan nemi különbség, amely a depresszióra hasonlító állapot szintjén manifesztálódik (Cryan és mtsai 2005), és ha igen, akkor az hasonló-e a humán viszonyokhoz (azaz a nőstények sérülékenyebbek-e ebben a tekintetben). Nőstény Long-Evans patkányok aktívabbak voltak Porsolt és porond tesztben, mint a hímek, melatonin kezelés hatására a porond tesztben mindkét nem még aktívabbá, míg a Porsolt tesztben kevésbé aktívvá vált (Brotto és mtsai 2000).

A már többször idézett Konkle és munkatársai 2003-ban megjelent cikkükben hím és nőstény Long-Evans és Sprague-Dawley patkányokat vizsgáltak különböző tartási körülmények (egyesével vagy csoportosan) között. A hat hetes CMS eredményeként csak nagyon kismértékű változásokat tapasztaltak a cukorfogyasztásban és a kortikoszteron szintekben. Az állatok testtömege nagyjából egyenletesen gyarapodott, bár a CMS-nek kitett hímeké jóval kisebb mértékben. Mindkét törzs nőstényeinél felborult az ösztrozsciklus, sok állat ciklicitása megszűnt (Konkle és mtsai 2003). Ugyanez a kutatócsoport egy másik cikkében következetes csökkenésről számol be a cukorfogyasztás tekintetében, miközben a preferenciát illetően nem tapasztaltak változást. Ennek a kísérletnek a során is megfigyelték az ösztrozsciklus felborulását, ami még a stresszelés végét követő hatodik héten is fennállt (Baker és mtsai 2006). Hasonló eredményről számol be Grippo és csoportja: a nőstény SPRD patkányok ciklusa mind a kontrollhoz, mind a CMS-t megelőző saját értékeikhez képest meghosszabbodott (Grippo és mtsai 2005). Humán adatok arra utalnak, hogy menopauza után kialakuló depresszióban ösztrogén kezelés javíthatja a fluoxetin hatását (Westlund Tam és Parry 2003), illetve posztpartum depresszióban önmagában is hatékony lehet a depressziós tünetek kezelésében (Ahokas és mtsai 2001).

Viselkedés szintjén a hím Long-Evans patkányokat találta legérzékenyebbnek egy olyan vizsgálat, amely hím és nőstény SPRD és Long-Evans törzsből származó állatokat hasonlított össze. A krónikus enyhe stressz után Porsolt tesztben ezek az állatok mutatták a leginkább passzív magatartást. Ugyanebben a vizsgálatban a krónikus enyhe stressz nem változtatta meg az agyi stimuláció küszöbértékét egyik csoportnál sem (Bielajew és mtsai 2003). Szintén a hímek érzékenysége mutatnak rá Duncko és munkatársai. Bár mindkét nem cukorfogyasztását csökkentette az általuk alkalmazott CMS, a tömeg növekedésének lassulása csak a hímekeket jellemezte, akárcsak a CRH mRNS-szint megnövekedése a hipotalamusz paraventrikuláris magjában (PVN, Duncko és mtsai 2001).

Egyesével vagy kettesével tartott nőstény SPRD patkányokat vizsgálva az derült ki, hogy csak az egyesével tartott állatok tömeggyarapodása maradt el a kontrolltól a CMS hatására, ahogy a cukorfogyasztás és a szociális interakciók száma is csak ebben a csoportban változott.

Ennek a vizsgálatnak az alapján úgy tűnik, hogy inkább a tartási körülmények, mintsem maga a krónikus enyhe stressz volt a felelős az ösztrozsciklus zavaráért is (Baker és mtsai 2007). A leírók konklúziója szerint vizsgálatuk bizonyíték arra, hogy a szociális kapcsolat fenntartása gátolhatja a stressz hatását nőstény patkányokban, de ha a szélesebb irodalmi környezetet vizsgáljuk, akkor erős a gyanú, hogy az enyhe stresszorok közül az izolált tartás a legerősebb, talán annyira erős, hogy már nem is sorolható az enyhék közé, különösen az amúgy társas természetű patkányok esetében.

A krónikus enyhe stresszel szembeni érzékenységről érdekes adatot szolgáltatnak Dalla és munkatársai. Miközben a hímekben csak viselkedésváltozásokat okozott a CMS (cukorfogyasztás csökkenése és alacsonyabb aktivitás a porond tesztben), addig a nőstényeknél a viselkedésváltozásokkal (ami a hímekéhez volt hasonló) párhuzamosan magasabb kortikoszteron szintet, az ösztrozsciklus zavarát és a hippocampusban és a hipotalamusban alacsonyabb szerotonerg aktivitást mértek. Ha a krónikus enyhe stresszt egy erőltetett úszás teszt követte, akkor viszont úgy tűnt, a nőstények könnyebben megbirkóznak ezzel az újabb stresszhelyezettel, mint a hímek. A hímek ugyanis kevesebb aktív viselkedéselemet mutattak, és a kortikoszteron szintjük is magasabb volt (Dalla és mtsai 2005).

Krónikus enyhe stressz és a cirkadián ritmus

A cirkadián ritmus zavara általános a depressziós emberek körében. A betegek gyakran számolnak be a ritmus amplitúdójának ellaposodásáról, fáziseltolódásról, ugyanakkor a tünetek is napszakos ritmicitást mutatnak. A betegek kortizolszintjében, testhőmérsékletében és melatoninszintjében is kimérhető, hogy biológiai órájuk rosszul jár (többnyire siet). Az alvásmegvonás és a fény terápiás hatása is nyilvánvalóvá teszik, hogy a betegséghez hozzájárul a belső napszakos ritmus felborulása (Lewy és mtsai 1987, Sack és mtsai 1990).

Gorka és munkatársai leírják, hogy a krónikus enyhe stressz hatására az állatok mozgásának nappali és cirkadián ritmusában is egyértelmű, hosszan fennálló változás következett be. Ha a fény-sötét ciklus normális volt, akkor a patkányok sötét (azaz aktív) fázisra eső aktivitása csökkent, míg a világos időszakban ilyen változás nem történt. Ha az állatokat állandó világosban tartották, a különbség a kontroll és a CMS csoport között még szembetűnőbb. A CMS állatok fázisai eltolódnak, aktivitásuk amplitúdói nagyon lecsökkennek a kontrollhoz

képest. Legkisebb a különbség az állandó sötétben tartott állatoknál, de a CMS csoport aktivitása itt is alacsonyabb (Gorka és mtsai 1996).

Willner saját laboratóriumából származik olyan eredmény, amely szerint a CMS nem csökkentette a cukorpreferenciát a világos szakaszban, a sötét periódus elején (amikor a patkányok a legaktívabbak) viszont igen (D'Aquila és mtsai 1997a). Egy másik kutatócsoport eredményei szerint 4 hétnyi krónikus enyhe stressz után eltűnt a patkányok hőmérsékletében megfigyelhető jellegzetes ritmicitás, a CMS állatok nappali hőmérséklete szignifikánsan magasabb volt, mint a kontrollé, a nappali kortikoszteron szintjük szintén megemelkedett (Ushijima és mtsai 2006). Egy lehetséges antidepresszáns vegyület, az agomelatin pozitív hatását a CMS modellben éppen annak tulajdonítják, hogy a molekula normalizálja a stressz által megzavart cirkadián ritmust (Papp és mtsai 2003).

Krónikus enyhe stressz és tanulás

A depresszió az esetek többségében kognitív zavarokkal is szövődik, különösen idősebb korban. A krónikus enyhe stressz rácsálókban is tanulás- és memóriaproblémákat okozhat. Egérkísérletben mind CMS, mind tanult tehetetlenség modellben a tanulási képesség és a memória romlását írták le vízi útvesztőben. Mindkét modell emelte a kortikoszteron szintjét és csökkentette a BDNF és a CREB mRNS-einek szintjét a hippocampusban. Antidepresszáns kezelés javította az állatok teljesítményét (Song és mtsai 2006). Egy másik egérkísérletben az egerek tanulási képességeit nem, a hosszútávú memóriáját viszont károsította a krónikus enyhe stressz (Pothion és mtsai 2005).

Az egyedek közötti különbségről

Strekalova és munkatársai azt vizsgálták, vajon a különböző szociális helyzetű (szubmisszív vagy domináns) egerek azonos módon reagálnak-e a krónikus enyhe stresszre. Az egerek státuszát a rezidens-intruder tesztben mutatott viselkedésük alapján határozták meg, a bizonytalan eseteket kizárták. Az egerek viselkedését különböző helyzetekben (pl. porond, tárgyfelismerés, két térfél, stb.) és cukorfogyasztását vizsgálták a krónikus stressz előtt. A csoportok között kezdetben semmiféle különbség nem volt mérhető. Az állatokat addig stresszelték, míg a többség cukorfogyasztása csökkent (4 hét). A stressz közben és után monitorozták a cukorfogyasztást, a stresszt követő héten újra elvégezték a viselkedésteszteket.

A cukorfogyasztási tesztek eredményei alapján a CMS egerekből két csoport alakult ki: anhedonikusak és nem anhedonikusak. A cukorfogyasztás tartósan csökkent az anhedonikus csoportban (azt az egeret tekintették anhedonikusnak, amelyik preferenciája 65% alá csökkent). Az adatok szerint azok az állatok, amelyek szubmisszívek voltak a rezidens-intruder tesztben, nagy százalékban lettek anhedonikusak, míg a dominánsakra ez nem volt jellemző. Az anhedónia együttjárt más depressziószerű jelekkel: a passzív viselkedés megnőtt a Porsolt tesztben és az új környezet felderítése csökkent egy felderítő viselkedést vizsgáló kísérletben. Mind az anhedonikus, mind a nem anhedonikus csoportra jellemző volt, hogy szorongóbb viselkedést mutattak, mozgásaktivitásuk megváltozott, a tömeggyarapodásuk lelassult. Ezek a változások tehát a krónikus stressz következményei, de nem feltétlenül párosulnak anhedóniával. Az ismeretlen környezet vagy tárgy iránt mutatott csökkent érdeklődés viszont jellemzően csökkent cukorpreferenciával társult. Az adatok alapján a szerzők úgy vélik, a rezidens-intruder tesztben mutatott szubmisszív magatartás hajlamosító tényező lehet a stressz következtében kialakuló anhedóniára egerekben (Strekalova és mtsai 2004).

Ennek a cikknek az eredményei magyarázatot kínálhatnak a krónikus enyhe stressz paradigma több problémájára (inkonzisztens eredmények, nehezen reprodukálható adatok, nem elég robosztus hatás, stressz - depresszió összefüggés). Meg kell jegyezni azonban, hogy azon kívül, hogy ezeket a kísérleteket egészen végezték, az alkalmazott stressz is nagyon eltért a más irodalmi hivatkozásokban találhatóaktól. A szerzők háromféle stresszort alkalmaztak: találkozást patkánnyal, kaloda stresszt és farokfelfüggesztést, ráadásul ezeket sem random módon. Bár a viselkedési kimenet (elsősorban a cukorfogyasztás) validálja a módszert, más szerzők éppen a stresszorok minőségének szerepére hívják fel a figyelmet az anhedónia és depressziószerű állapot kialakításakor (Willner 2005).

Kísérleti munka és munkahipotézisek

A krónikus enyhe stressz modell beállítása – első kísérlet

Problémafelvetés

A krónikus enyhe stressz modellt a legtöbb kritika a táplálék- és folyadékmegvonás miatt érte (Matthews és mtsai 1995, Hatcher és mtsai 1997, Reid és mtsai 1997). Az utóbbi években számos olyan sikeres módszerbeállításról számolnak be, ahol nem alkalmazták ezeket a stresszorokat (Konkle és mtsai 2003, Pothion és mtsai 2004, Bekris és mtsai 2005, Yalcin és mtsai 2005). Mivel a módszert a cukorteszttel validáljuk, mindenképpen el akartuk kerülni az esetleges metabolikus hatásokat, ezért mi sem az eredeti, hanem egy módosított stresszrendszert használtunk, ami nagyon hasonló a szakirodalomban leírtakhoz. Az irodalomban a modellt akkor tekintik működőnek, ha a CMS-procedúra eredményeként az állatok cukorfogyasztása és/vagy cukorpreferenciája csökken a kontrollokéhoz képest. Bár a módszer validitását megkérdőjelezők szerint éppen a cukorfogyasztás az, ami nagy egyéni variabilitása miatt nem modellezi a humán anhedóniát, a nagyszámú pozitív eredmény miatt indokoltnak éreztük, hogy módosított stresszelési eljárásunkat követően a cukorfogyasztás változását is megmérjük. Ehhez az állatok szomjazztatására és éheztetésére volt szükség, bár éppen ezt a két stresszort szerettük volna kihagyni a stresszrendszerből. Ezért a cukortesztet megelőzően csak 5 órára vettük el a vizet és a táplálékot az állatoktól, az irodalomban leírt 12-20 óra helyett (Papp és mtsai 2002, Konkle és mtsai 2003, Grippo és mtsai 2003). Hasonlóan rövid idejű táplálék- és vízmegvonásra találunk példát az irodalomban (Gronli és mtsai 2004), de nem ez az általános. A megvonás természetesen a kontrollokat is érintette. A cukorteszteket a kísérlet során többször is elvégeztük (monitorozás), a tesztekkel párhuzamosan az állatok tömegét is mértük. Az eredményeket *A krónikus enyhe stressz modell beállítása* című fejezetben mutatom be.

Hipotézis

Hipotézisünk az volt, hogy ha a stresszelés hatására valóban a humán depresszió modellezésére alkalmas állapot jön létre, akkor az kiváltható éheztetés és szomjazztatás nélkül is. Amennyiben a cukorfogyasztás változása valóban a hedonikus állapot változását tükrözi, úgy a módosított protokoll ugyanolyan típusú változást generál, mint az eredeti.

A viselkedésre gyakorolt hatás vizsgálata – második kísérlet

Problémafelvetés

A depresszió és a szorongás együttes előfordulásáról emberekben már volt szó a Bevezetőben. A krónikus enyhe stresszt követően az állatokat különböző tesztekben vizsgáltuk: az emelt keresztlabirintus szorongást keltő helyzet, a szociális elkerülés teszt a szociális kapcsolatokat vizsgálja, az erőltetett úszás tesztben mutatott mozgásaktivitásváltozásokat a szakirodalom a depressziószerű állapottal hozza összefüggésbe, míg a grooming viselkedés az általános emocionális állapotot jellemzi. Ennek a kísérletnek a tervezésekor arra is kíváncsiak voltunk, hogy megfigyelhető-e összefüggés a viselkedéstesztekkel mérhető változások és a hedonikus értékelés változása között, ezért a krónikus enyhe stresszen átesett állatok viselkedésváltozóinak és cukorfogyasztásának alapján korrelációvizsgálatot végeztünk. Vizsgáltuk azt is, hogy a CMS hatása a viselkedésre mennyire tartós.

Az időbeli lefutás mind a depresszió kialakulásában, mind a terápiában kulcsfontosságú. A szakirodalomban elsősorban olyan eredményeket olvashatunk, amelyeket közvetlenül a CMS után mértek, de vannak adatok, amelyek arra utalnak, hogy a viselkedésváltozások tartósan megmaradhatnak (Zurita és mtsai 2000, Baker 2006, Pohl és mtsai 2007).

Humán depresszióban megfigyelhető azoknak a viselkedésformáknak a károsodása, amelyeket a viselkedéskutatásokban az említett tesztekkel próbálunk modellezni patkányon (fokozott szorongásválasz stresszhelyzetben, szociális kapcsolatok sérülése, az általános emocionális állapot negatív irányú eltolódása).

Hipotézis

Az adatok alapján azt vártuk, hogy ha patkányaink a krónikus enyhe stressz procedúra hatására depressziószerű viselkedést mutatnak, akkor viselkedésük gátolt lesz a szorongást keltő helyzetekben.

A korrelációvizsgálat tervezése során hipotézisünk az volt, hogy van olyan viselkedésforma, amelynek változása korrelál a cukorfogyasztás változásával, vagyis jellemző lehet a depressziószerű, anhedonikus állapotra, bár nincs direkt kapcsolatban a hedonikus értékeléssel. Az eredményeket *A krónikus enyhe stressz hatása a különböző tesztekben mérhető viselkedésre* című fejezet tartalmazza.

Antidepresszáns és szorongásoldó kezelés hatásának vizsgálata – harmadik kísérlet

Problémafelvetés

Természetesen az irodalomban szép számú példát látunk arra, hogy az ismert vagy kifejlesztés alatt álló antidepresszívumok helyreállítják a cukorpreferenciát (Papp és mtsai 1996, Millan és mtsai 2001, Harkin és mtsai 2002, Song és mtsai 2006, Montgomery és mtsai 2001, Grippo és mtsai 2006), arról viszont kevesebb információ áll rendelkezésre, hogy milyen a hatásuk az egyéb viselkedésváltozások tekintetében (Kopp és mtsai 1999, Griebel és mtsai 2002a,b). A szakirodalom alapján bizonyosnak látszik, hogy – hasonlóan a humán betegségben tapasztalthoz – a klinikailag hatásos antidepresszívumok csak krónikus kezelés után fejtik ki hatásukat a modellben, ezért nem terveztünk akut kezelést. Ismert, hogy a viselkedésváltozások nem mindegyike feltétlenül a depressziószerű állapot következménye (Strekalova és mtsai 2004), ezért érdekes kérdés, hogy vajon ezeket a változásokat is korrigálja-e a depresszióellenes szer. Mivel a szakirodalomban vita folyik a krónikus enyhe stressz tüneti és konstruktív validitásáról, érdemesnek tartom megvizsgálni egy ismert, a klinikumban anxiolitikumként alkalmazott szer hatását is. A szorongásoldót (diazepam) az antidepresszánssal ellentétben akut módon adtuk, mivel tesztjeink egy része azt vizsgálta, hogy hogyan változott az állatok viselkedése akut szorongást keltő helyzetben. A diazepam ezekben a tesztekben akut adagolás esetén is hatékony a szokásos körülmények között (Pellow 1986, Pellow és File 1986, Leveleki és mtsai 2006).

Hipotézis

Feltételeztük, hogy ha egy viselkedésváltozás jellemző a depresszióra, úgy azt az antidepresszáns kezelés normalizálja, míg egy szorongásoldó kezelés nem, vagy nem teljesen. A korábbi eredmények alapján feltételeztük, hogy a krónikus enyhe stressz alkalmas lehet depressziószerű tünetek/állapot kiváltására, míg szorongására nem, vagy legalábbis kevésbé, ezért azt vártuk, hogy az antidepresszáns hatékonyabban normalizálja az állatok viselkedését, mint a szorongásoldó. Az eredményeket az *Antidepresszáns és szorongásoldó kezelés hatásának vizsgálata* című fejezetben mutatom be.

A zsigeri érzettársítás vizsgálata – negyedik kísérlet

Problémafelvetés

A krónikus enyhe stressz modell validálása és a szakirodalom tanulmányozása során felmerült a kérdés, hogy vajon azok az állatok, amelyek érzékenyek a krónikus enyhe stresszre, más, a stresszel nem közvetlenül kapcsolódó viselkedésekben is utánozhatják-e a depressziós betegséget. Közismert, hogy a depresszióban szenvedők legnagyobb része magába forduló, a külső ingereket a nem betegektől eltérő módon értékelő személyiségjegyeket vesz fel a betegség idején. Gyakori az egyébként semleges vagy akár pozitív események negatívnak, irritatívnak értékelése, miközben a saját személyiség megítélése is drámaian romlik (gyakran téveszmés fokú, de alaptalan önvád, értéktelenség érzése).

Különösen a betegség korai szakaszában, amikor a tünetek még nem olyan súlyosak és egyértelműek, hogy a beteg elfogadja annak lehetőségét, hogy nem szervi eredetű problémája van, sokan keresik a problémáik okát valamilyen zsigeri szervet érintő megbetegedésben. Valószínű, hogy a depresszióban szenvedők egy része hajlamos tünetként értelmezett jeleket patológiásnak minősíteni akkor is, ha azok a normális életfolyamatok részei. Mivel a beteg magába forduló és tudja, hogy „valami baj van vele”, feltételezésem szerint gyakrabban fordulhat elő, hogy olyan testi történéseket is felfedez, amelyek egy pozitív töltetű, kevésbé introvertált életszakaszban elkerülnék a figyelmét. Bárdos György laboratóriumában korábban olyan kísérleteket folytattam, amelyben megpróbáltuk a patkányokat „megtanítani” arra, hogy asszociálják az ivási telítődés során esetleg keletkező kellemetlen zsigeri jeleket egy egyébként semleges ízű folyadékkal. Hipotézisünk az volt, hogy amennyiben a társítás sikeres és valóban létezik olyan diszkomfort érzet, amely az ivási telítődés kései szakaszában jelenik meg, akkor később az állat kevésbé találja majd vonzóznak az asszociált ízt, mint egy másikat. Vagyis tulajdonképpen a hedonikus érték csökkenését mérhetjük. Bár adataink igazolták a kezdeti hipotézist (Bárdos és mtsai 2002, Bárdos 2008), a kísérlet kivitelezése nem várt nehézségekbe ütközött, különösen, mikor reprodukálni szeretnénk volna az eredményeket. Később bebizonyosodott, hogy az asszociáció csak olyan állatokon működik, akiket egyesével, nagyon ingerszegény környezetben tartottunk. A patkányoknak, akik egyébként társas állatok, az ilyen tartási mód erős pszichoszociális stressz.

Hipotézis

Feltételeztük, hogy a krónikus enyhe stressznek hasonló hatása lehet a zsigeri érzékelésre és érzettársításra, mint az izolációnak, illetve, hogy azok az állatok, amelyek érzékenyebbek a CMS hatására, könnyebben társítják a szatiáció diszkomfort szakaszát egy korábban semleges ízzel.

Célkitűzések

Az első kísérletben megvizsgáltuk, hogy a paradigma beállítható-e laboratóriumunkban, vagyis hogy ugyanúgy befolyásolja-e a patkányok hedonikus értékelését, ahogyan az eredeti módszer, illetve a szakirodalomban fellelhető számos módosított változat.

A második kísérletben vizsgáltuk a CMS hatását a patkányok viselkedésére. A kísérletek elsősorban a szorongást keltő helyzetekben mutatott viselkedést mérik, de van közöttük olyan is, amely a szociális kapcsolatokról szolgáltat információt. Az elvégzett tesztek: emelt keresztlabirintus teszt, erőltetett úszás, szociális elkerülés és grooming teszt.

Vizsgáltuk, hogy a tapasztalt viselkedésváltozások milyen összefüggésben vannak a krónikus enyhe stressz hatására kialakuló anhedóniával, amelyet a depressziószerű állapot tünetének tekintünk a szakirodalom ismeretében.

Megvizsgáltuk, hogy a kialakult viselkedésváltozások csak a stresszelés időtartama alatt mérhetők, vagy tartósak, rehabilitációs időszak beiktatása után is megmaradnak-e.

A harmadik kísérletben vizsgáltuk ismert, a klinikumban használt antidepresszánssal történő kezelés hatását a kialakuló viselkedésváltozásokra és - mivel a szakirodalomban vita folyik a krónikus enyhe stressz modell tüneti és konstruktív validitásáról - megvizsgáltuk egy ismert, a klinikumban szorongásoldóként alkalmazott szer hatását is.

A negyedik kísérletben megvizsgáltuk, hogy egy általunk kialakított itatási modellben ki tudunk-e mutatni korábbi, pszichoszociális stresszen átesett patkányokon megfigyelt eredményeinkhez hasonló változásokat. Ez a kísérlet információt szolgáltat arról, hogy a krónikus enyhe stresszen átesett patkányok másként értékeli-e a zsigeri eredetű ingerületeket.

Mivel a szakirodalom és saját tapasztalataink alapján úgy tűnt, hogy a patkányok között nagy az egyedi variabilitás abban a tekintetben, hogy mennyire érzékenyek a krónikus enyhe stressz depressziókeltő hatására, kíváncsiak voltunk arra is, hogy azok az állatok, amelyek inkább anhedonikusak lettek a CMS eredményeként, könnyebben asszociáltak-e.

Módszerek és anyagok

Krónikus enyhe stressz

A krónikus enyhe stressz protokoll lényegében minden kísérletben megegyezett, de minden kísérlet megkívánt kisebb módosításokat, ezeket a megfelelő fejezetben írom le.

Az állatok a laboratóriumba érkezést követő héten akklimatizálódtak. A stresszelés ideje alatt napi 2-3 különböző stresszort alkalmaztunk. A krónikus enyhe stressz a modell beállítása során 5 hétig, később 3 hétig tartott.

Az öthetes stressz protokoll időbeosztását mutatja a 4. táblázat.

A krónikus enyhe stressz elemei

„Ferde doboz” – az állatok lakódobozát kb. 40°-os szögben megdöntöttük úgy, hogy az etető legyen felül.

„Kaloda stressz” – 1 literes műanyag palack felső részét levágtuk olyan magasságban, hogy az állatot kényelmesen beletehessük, majd a felső részt kupak nélkül visszazarasztottuk. Az állat elég levegőt kapott a palack száján keresztül, a túlságos felmelegedés megelőzésére pedig lyukakat vágtunk a palack alsó részén is. A palack akkora, hogy a patkány meg is tud fordulni benne, mozgástere azonban leszűkült, tulajdonképpen csapdába esett. A palackokat úgy helyeztük el, hogy a patkányok lássák egymást.

„Nedves alom” – a lakóketrec forgácsára annyi vizet öntöttünk, hogy az alom nedves legyen, de a dobozban ne álljon a víz.

„Platform” – a platform egy 1,2 méter magas rúdra rögzített 17X17 cm-es fanégyzet, a patkányokat erre ültettük egyesével úgy, hogy ne tudjanak átmászni máshova. A platformokat úgy helyeztük el, hogy az állatok lássák egymást.

„10 állat egy dobozban, egyedül a dobozban” – hármas típusú standard patkányketrec, az alján forgács, víz és táplálék *ad libitum*.

„Porsolt henger” – 17 cm átmérőjű, 40 cm magas, átlátszó üveghenger, amelyet 8-10 centiméter magasságig megtöltünk 25°C-os vízzel. A víz szintje olyan magas van, ami még nem kényszeríti úszásra az állatokat, de nem tudnak összekuporodni a henger alján.

„Rezidens-intruder” – ismeretlen, hasonló méretű hím patkányt 2-3 napig egyedül tartottunk standard kettes dobozban. A stresszelt állatot az ismeretlen hím ketrecébe helyeztük. (A kísérlet során egyetlen stresszelt állat sem sérült meg, a verekedések nem voltak vadak.)

„Úszás” – vízi útvesztő kísérletek kivitelezésére alkalmas medencét 25°C-os vízzel megtöltöttünk olyan magasságig, hogy a patkány úszni kényszerüljön.

„Megzavart sötét/világos” – a nappali, nyugalmi időszak megvilágítása: 3 óra világos, 1,5 óra sötét, 3 óra világos, 1,5 óra sötét, 3 óra világos; az éjszakai, aktív időszak megvilágítása: 3 óra sötét, 1,5 óra világos, 3 óra sötét, 1,5 óra világos, 3 óra sötét.

4. táblázat. A krónikus enyhe stressz protokoll

nap	délelőtt	délután	éjjel
1.	állatok megérkeznek, szétrakás,	akklimatizáció	akklimatizáció
2-7.	akklimatizáció	akklimatizáció	akklimatizáció
1.	súlymérés	4 óra ferde doboz	2 óra világos
2.	1 óra kaloda	nedves alom	nedves alom
3.	platform 1 óra	1 óra kaloda	
4.	10 állat egy dobozban	10 állat egy dobozban	sötét/világos
5.	Porsolt hengerben 30 perc	4 óra ferde doboz	egyedül, sötét/világos
6-7.	egyedül a dobozban és	megzavart	sötét/világos
1.	súlymérés	nedves alom	nedves alom
2.	rezidens/intruder 1 óra	Porsolt hengerben 30 perc	
3.	10 állat egy dobozban	10 állat egy dobozban	10 állat egy dobozban
4.	platform 1 óra	20 perc úszás	sötét/világos
5.	20 perc úszás	2 óra sötét	egyedül, sötét/világos
6-7.	egyedül a dobozban és	megzavart	sötét/világos
1.	súlymérés	4 óra ferde doboz	
2.	platform 1 óra	10 állat egy dobozban	
3.	platform 1 óra	Porsolt hengerben 30 perc	2 óra világos
4.	rezidens/intruder 1 óra	egyedül a dobozban és	sötét/világos
5.	nedves alom	1 óra kaloda	egyedül, sötét/világos
6-7.	egyedül a dobozban és	megzavart	sötét/világos
1.	súlymérés	nedves alom	
2	1 óra kaloda stressz	nedves alom	nedves alom
3.	platform 1 óra	1 óra kaloda stressz	
4.	10 állat egy dobozban	10 állat egy dobozban	sötét/világos
5.	Porsolt hengerben 20 perc	4 óra ferde doboz	egyedül, sötét/világos
6-7.	egyedül a dobozban és	megzavart	sötét/világos
1.	súlymérés	nedves alom	
2.	rezidens/intruder 1 óra	Porsolt hengerben 20 perc	2 óra világos
3.	10 állat egy dobozban	10 állat egy dobozban	10 állat egy dobozban
4.	20 perc úszás		sötét/világos
5.	20 perc úszás	2 óra sötét	egyedül, sötét/világos
6-7.	egyedül a dobozban és	megzavart	sötét/világos

Viselkedésteszték

Cukorteszt

A tesztet 5 órával megelőzően a folyadékot és az élelmet elvettük, az állatokat megmértük és egyesével szétraktuk. Két palackban vizet és 1%-os cukoroldatot kaptak, amit egy órán keresztül szabadon fogyaszthattak. 60 perc után mindkét palack tömegét megmértük. (A csöpgés okozta folyadékvesztés kiküszöbölésére olyan itatót használtunk, amelynek a csövében golyó van. Minden teszt előtt kipróbáltuk az itatókat.)

A teszt során kétféle adatot kaptunk:

- az abszolút cukorfogyasztás (AS) az a g-ban kifejezett mennyiség, amit az adott állat megivott,
- a cukorpreferencia (SP) az alábbi képlet szerint számított érték:

$$SP = \frac{\text{cukorfogyasztás (g)}}{\text{cukorfogyasztás (g)} + \text{vízfogyasztás (g)}} * 100$$

Emelt keresztlabirintus (emelt kereszpalló, elevated plus-maze)

A kísérletet Pellow módszere szerint végeztük (Pellow és mtsai 1985). A vizsgálatához a talajtól 50 cm magasra megemelt, 100 cm hosszú és 15 cm széles karokkal rendelkező, fa padlózatú keresztlabirintust használtunk. A kereszt két szemben lévő karja hosszanti oldalain és a végén 40 cm magas fekete plexifallal rendelkezik (zárt kar), csak a kereszt középső, 15x15 cm-es része felé nyitott. A másik két, egymással szemben lévő kar nyitott. A labirintust egy kereszt alakú, gyenge fényt adó lámpa világítja meg, egyéb fény a helyiségben nincs.

Az 5 perc mérési idő alatt négy különböző változót mértünk: nyitott karban töltött idő, zárt karban töltött idő, nyitott karba történő belépések száma, zárt karba történő belépések száma.

Porsolt teszt (erőltetett úszás teszt, forced swim test, FST)

A kísérletet Porsolt módszere szerint végeztük (Porsolt és mtsai 1978). 40 cm magas, 17 cm átmérőjű átlászó üveghengert 25 °C-os vízzel. Az első napon az állatok 15 percre kerültek a hengerbe, ezalatt megtapasztalták, hogy nem tudnak kimászni belőle. A második napon már csak 5 percre tettük őket a vízbe. A második napon

mértük azt az időt, amit az állat mozdulatlanul töltött. Mozdulatlannak minősítettük azt is, ha csak olyan lassú mozdulatokat tett, amik arra szolgáltak, hogy az orra a víz felszíne fölött maradjon.

Szociális elkerülés teszt (social avoidance)

A Haller és Bakos által leírt módszer módosított változatát használtuk (Haller és Bakos 2002). A szociális elkerülés méréséhez használt dobozok 30x50 centiméteresek, magasságuk 30 cm, fekete plexiből készültek. Aljukat forgács borítja. A dobozokat 3 részre osztják a válaszfalak, az első rekeszt a középső résztől fekete plexifal választja el, az átjárást egy felfelé csúszthatató, 5 cm széles ajtó biztosítja. Itt csak a vizsgált állat tartózkodhat, ha ebben a rekeszben van, el tud bújni úgy, hogy ne lássa az opponens patkányt. A második, középső rekesz a társ-térfél, ahova a vizsgált állat beléphet, az opponens azonban nem. A társ-térfelet a harmadik rekesztől (az opponens térfeletől) perforált, átlátszó plexi választja el. Az opponens-térfél és a társ-térfél között nincs átjáró. Az egész dobozt átlátszó plexivel lehet letakarni.

A vizsgálat előtt néhány órával az opponens-térfelre tettünk egy megtermett, idősebb (450-500 g) hím patkányt. A vizsgált állatot az első rekeszbe tettük, ahol két percig lezárt ajtó mellett akklimatizálódott a környezethez. 2 perc után az ajtót felhúztuk, így a vizsgált patkány a társ-térfelre léphetett. Viselkedését 5 percig követtük.

A vizsgálati helyiséget piros fény világította meg, ember csak az ajtó felhúzásakor tartózkodott a szobában. Az állatok viselkedéséről videófelvétel készült, amit utólag elemeztünk. A videokamerát a dobozok fölött erősítettük az álmennyezet gerendáihoz.

Az elemzés során mértük, hogy hányszor lép át az állat a társ-térfelre és ott mennyit tartózkodik.

Grooming analízis

Az állatokat egyesével helyeztük az 50x50 cm alapterületű, fekete plexiből készült dobozba. A doboz alján forgács volt, teteje nyitott. A viselkedést 15 percig figyeltük meg, videokamerával rögzítettük, majd utólag elemeztük. Kísérletünkben csak a hagyományos, kvantitatív elemzést végeztük el (Spruijt és mtsai 1992, Kalueff és Tuohimaa 2005), mértük az önápoló viselkedés megjelenésének latenciáját és a viselkedés összidejét.

Testtömeg mérése

A kísérletben résztvevő állatok tömegét mindig a hét első napján mértük.

Az itatásos kísérlet során használt módszerek

Ízpreferencia vizsgálata

A patkányokat egyesével tartottunk. A ketrecben két itatót helyeztünk el, az egyikben „A” ízű, a másikban „B” ízű víz volt. Az itatókat minden nap többször megcseréltük, hogy kivédjük a helypreferencia hatását. Az itatókat minden reggel megmértük, a fogyasztást a mért súlyból számoltuk. A preferenciavizsgálat 7 napig tartott. A hét nap ivásait patkányonként átlagoltuk, majd ezeket az értékeket hasonlítottuk össze ízenként.

Az ivási görbe felvétele

A kísérletben szereplő patkányokat 24 órás szomjazztatást követően 4 nap alatt hozzászoktattuk ahhoz, hogy csak az itatódobozban kapnak inni. Az itatódoboz elülső oldala és teteje átlátszó, egyébként fekete plexiből készült, 20x20x19 cm-es doboz, amelynek padlózata rácsos. A doboz elején egy lyukon keresztül az itató fém csöve nyúlik be a doboz belső terébe. A készülékhez csatlakoztatott mérőműszer számlálja, hogy az állat hányszor nyalja meg a csövet. A mérőrendszerhez csatlakozó számítógép ábráján grafikus formában is követhető az ivás (Anxio, Experimetria).

Az ötödik naptól kezdve két napon át mértük, hogy meddig tart az intenzív ivási szakasz. Bár ez valószínűleg patkányonként eltérő, az adott állatra jellemző adat, ráadásul egy sereg tényező befolyásolja (hőmérséklet, a többi állat által keltett zaj, stb.), mégis meghatározható egy olyan körülbelüli érték, amikor már minden állat megszakítja az ivást, hogy körbeszimatoljon, mosakodjon. Ezután még tovább isznak, de egyre többször szakítják meg (ezért intermittáló szakasznak nevezzük), majd végül befejezik az ivást (Blass és Hall 1974).

Az állatokat 25 percre tettük az itatódobozba, a nyalintások számát félpercenként leolvastuk. A módszer megegyezik az általunk már korábban is használt és leírt itatási teszttel (Móricz és mtsai 1998, Bárdos és mtsai 2002).

A „B” íz asszociációja az ivás késői szakaszával

Mivel az állatok nem preferálták egyik ízt sem, az asszociáció során az intenzív szakaszban az „A” ízt kapták, amit az intermittáló szakaszban „B” ízre cseréltünk. Az asszociáció kialakítása 20 napig tartott. Az asszociáció idején a patkányok egyesével kerültek az itatódoboz helyiségébe, ahol ember csak a palackcsere idején tartózkodott (Bárdos és mtsai 2002).

Itatási teszt

Az itatási tesztet egypalackos és kétpalackos változatban is elvégeztük. Az egypalackos változatban az állatokat ugyanabba az itatódobozba tettük, ahol az asszociáció zajlott, de a teszt során csak egyféle ízt kapott. A folyadékfelvételt 25 percig mértük. A tesztet minden állatnál elvégeztük mindkét íz esetén. A kétpalackos teszthez az állatokat egy napra egyesével helyeztük el a lakóketrecükhöz hasonló dobozban, ahol két különböző palackból ihattak. 24 óra elteltével a palackok súlyát megmértük. A kétpalackos teszt előtt nem szomjazztattuk az állatokat.

Anyagok

A második kísérletben fluoxetint (EGIS) és diazepamot (Richter) használtunk. Az anyagokat 0,4%-os metilcellulóz szuszpenzióban intraperitoneálisan adtuk, a kezelés térfogata 2 ml/kg. A kezelés a CMS ideje alatt reggel (9:00) történt, a később diazepammal kezelt állatok ekkor oldószert kaptak. A fluoxetint a továbbiakban is reggel adtuk, a diazepamot azonban a teszt előtt fél órával. A fluoxetint 3 mg/kg dózisban alkalmaztuk. Mivel a diazepam legkisebb hatékony dózisa tesztenként eltérő, az alkalmazott dózist az adott tesztnél írom le.

Az itatásos tesztben „A” ízként meggyaroma (Szilas), „B” ízként mogyoróaroma (Szilas) nagyon erősen hígított oldatát használtuk.

Állatok

A kísérletekben 190-200 g, illetve 240-260 g tömegű hím Wistar patkányokat (Charles River, Magyarország) használtunk. A kontroll és a CMS csoportokat külön helyiségben tartottuk,

standard hármás típusú ketrecben négyesével, táplálék és víz *ad libitum* hozzáférhető volt, hacsak a kísérlet más elrendezést nem kívánt.

Statisztika

Az első kísérletben a kontroll és a CMS csoport cukorfogyasztását, cukorpreferenciáját és testtömegét ismétléses ANOVA-val hasonlítottam össze, ahol a független változó a csoport, az ismétlés pedig a hetenkénti mérés, vagyis az idő. A páronkénti összehasonlításhoz a Fisher-féle LSD post-hoc tesztet használtam.

A második kísérletben az összefüggéseket a Pearson-féle korreláció analízissel vizsgáltam. A krónikus enyhe stressz hatását a cukorfogyasztásra ismétléses ANOVA-val elemeztem, a kontroll és CMS csoport viselkedéseleseit Student t-tesztel hasonlítottam össze. Az időbeli lefutást kétszemponos (csoport, a teszt időpontja) ANOVA-val értékeltem. Amennyiben lehetséges volt, Student t-tesztel vagy Fisher LSD-tesztel hasonlítottam össze a párokat.

A harmadik kísérletben az adatokat kétszemponos ANOVA-val értékeltem (stressz és drog). A páros összehasonlításhoz a Fisher LSD-tesztet használtam.

A negyedik kísérletben a cukortesztet kétszemponos (csoport, a teszt időpontja) ANOVA és Fisher LSD-teszt segítségével értékeltem. Az itatási tesztben szintén kétszemponos (csoport, íz) ANOVA-t használtam. Ha lehetséges volt, Fisher LSD-tesztet is alkalmaztam.

Valamennyi statisztikai próbában a $p < 0,05$ értéket fogadtam el szignifikánsnak. A szakirodalom alapján a 0,051 és 0,080 között p értékeket trendként szerepeltettem. A számításokat a Statistica 8 (StatSoft Inc., USA) program segítségével végeztem.

Valamennyi kísérletben az átlagot és az átlag hibáját (\pm SE) ábrázoltam.

A krónikus enyhe stressz modell beállítása

A kísérlet menete

24 db 190-200 g tömegű hím Wistar patkányt négyesével helyeztünk el hármastípusú makrolon ketrecekben a CMS-procedúra megkezdése előtt 7 nappal. Víz és táplálék *ad libitum* hozzáférhető volt, valamint egy másik palackban 1%-os cukoroldat is, hogy az állatok hozzászokhassanak az édes ízhez. A cukros oldatot és a vizet tartalmazó palackokat rendszeresen cseréltettük, mert korábbi tapasztalataink szerint a patkányokban nagyon erős a hajlam a helypreferenciára.

Az 5. napon végeztük el az alap cukortesztet.

Az állatokat a teszt után két csoportba osztottuk úgy, hogy a csoportok között ne legyen különbség a két jellemző adat (AS, SP) között, majd ismét négyesével helyeztük el őket. Mindkét csoportba (kontroll: K és stresszelt: CMS) 12 állat került. Az alap cukorteszt utáni 3. napon kezdődött a stresszelési eljárás, amely annyiban különbözött a később alkalmazottól, hogy minden hétfőn elvégeztük a szomjazzatással-éheztetéssel és elkülönítéssel járó cukortesztet. A krónikus enyhe stressz procedúrát 5 hétig folytattuk.

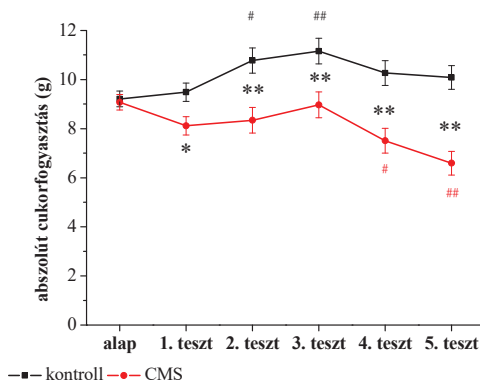
Eredmények

Cukorfogyasztás

Az alap cukortesztben nem volt különbség a kontroll és a CMS abszolút cukorfogyasztásában, hiszen így osztottuk csoportba őket.

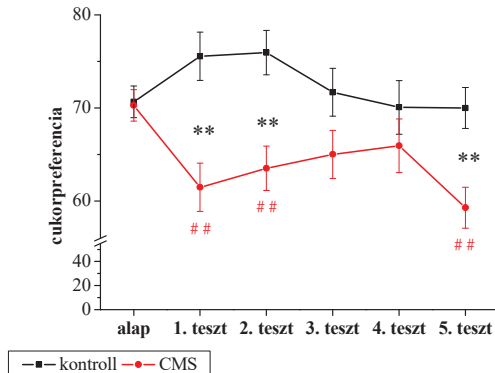
Az ANOVA eredménye szerint mind a csoportnak ($F(1,22)=42,35$; $p<0,01$), mind az időnek ($F(5,110)=3,81$; $p<0,01$) szignifikáns a hatása. A csoport és az idő interakciója szintén statisztikailag szignifikáns ($F(5,110)=3,81$; $p<0,01$). A stressz hatására a CMS csoport abszolút cukorfogyasztása kisebb, mint a kontrollé, ez a különbség valamennyi mérési pontban szignifikáns. A kontroll csoport abszolút cukorfogyasztása két mérési pontban is szignifikáns növekedést mutatott az alap teszthez képest: a harmadik és a negyedik cukortesztben. A CMS csoport cukorfogyasztása a CMS időtartama alatt egyszerűen sem

növekedett szignifikánsan az alaphoz képest (valójában mindvégig alacsonyabb volt), a csökkenés a 4. és 5. cukortesztben volt statisztikailag szignifikáns. (3. ábra)



3. ábra. A CMS hatása az abszolút cukorfogyasztásra. A stressz hatására a CMS csoport abszolút cukorfogyasztása minden mérési pontban kisebb, mint a kontrollé. $N_{\text{kontroll}}=12$, $n_{\text{CMS}}=12$. # $p<0,05$ vs. alap, ## $p<0,01$ vs. alap, * $p<0,05$ vs. kontroll, ** $p<0,01$ vs. kontroll.

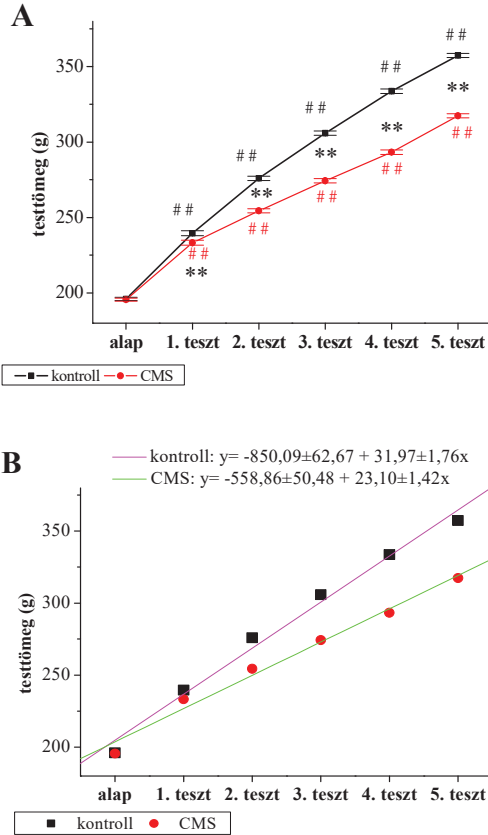
A cukorpreferencia (SP) nevű változót sok szerző az anhedónia alkalmasabb mérőjének tekinti, mit az abszolút cukorfogyasztást. A mi kísérletsorozatunkban a csoportnak szignifikáns hatása volt a cukorpreferenciára: $F(1,22)=18,82$, $p<0,01$. A CMS csoport SP-ja az alapot kivéve minden mérési pontban alacsonyabb, mint a kontrollé. Az idő hatása nem szignifikáns: $F(5,110)=1,64$, $p=0,15$, míg a kettő interakciója igen: $F(5,110)=2,81$ és $p=0,02$. A kontroll állatok preferenciája állandó, egyik mérési pontban sem különbözik szignifikánsan az alaptól. Számszerűleg ugyan növekedést mutat a 3. és 4. cukortesztben, ott, ahol az abszolút cukorfogyasztás magasabb, de a különbség statisztikailag nem szignifikáns. A CMS csoport értékei az első, második és ötödik cukortesztben szignifikánsan alacsonyabbak az alapénál (a CMS csoport esetében tehát az időnek is van hatása), míg a harmadik és negyedik tesztben az értékek alacsonyabbak, de az eltérés nem szignifikáns ($p<0,01$, $p=0,04$, $p=0,10$, $p=0,17$ és $p<0,01$). (4. ábra)



4. ábra. A cukorpreferencia változása a CMS és az idő hatására. A kontroll állatok preferenciája időben állandó, míg a CMS csoport preferenciája csökken, de nem minden pontban. A CMS csoport preferenciája alacsonyabb, mint a kontrollé, kivéve a 4. tesztben. A harmadik tesztben a különbség kevéssel elmarad a szignifikánstól. $N_{\text{kontroll}}=12$, $n_{\text{CMS}}=12$.
 ## $p<0,01$ vs. alap, ** $p<0,01$ vs. kontroll.

Testtömeg változások

A kísérletbeállítás során az állatok tömegét a cukorteszteket megelőzően mértük. Szándékosan nagyon hasonló tömegű patkányokkal kezdtük el a mérésorozatot, ennek megfelelően a két csoport között nem volt különbség a CMS-t megelőzően (bár a csoportba osztás nem a testsúlyuk, hanem a cukorfogyasztásuk alapján történt). A továbbiakban mind a stressznek ($F(1,22)=382,4$, $p<0,01$), mind az időnek ($F(5,110)=3544,9$, $p<0,01$) szignifikáns hatása volt. A stressz és az idő interakciója szintén szignifikáns: $F(5,110)=95,9$ és $p<0,01$. A kontroll állatok súlya a kísérlet ideje alatt végig a fajtának megfelelően növekedett, minden pontban szignifikánsan magasabb az előző pont értékéhez képest. A CMS csoport súlya szintén mindvégig növekedett, de a gyarapodás kisebb mértékű volt, ezt jelzi, hogy (az alapot kivéve) minden pontban szignifikánsan kisebb a súlyuk, mint a megfelelő kontroll értékek (5. A ábra). A görbékre illesztett egyenesek meredeksége jelentősen különbözik (kontroll: $y=-850,09\pm62,67 + 31,97\pm1,76x$, CMS: $y=-558,86\pm50,48 + 23,10\pm1,42x$), vagyis a gyarapodás üteme eltérő (5. ábra B).



5. ábra. A testtömegek alakulása. A kontroll állatok tömege koruknak megfelelően növekedett. A CMS állatok tömege is nőtt az idő függvényében, de a CMS hatására elmaradt a kontrollokétól. Az ábrázolt adatok: csoportonként 12 állat átlaga és az átlag hibája (SE). # $p < 0,05$ vs. alap, ## $p < 0,01$ vs. alap, * $p < 0,05$ vs. kontroll, ** $p < 0,01$ vs. kontroll.

Megvitatás

Célunk ezzel a kísérletsorozattal az volt, hogy kidolgozzunk egy olyan krónikus enyhe stressz protokollt, amely megvalósítja a Willner által leírt és a krónikus enyhe stressz irodalomban

elfogadott kritériumot, az édes ízre adott megváltozott választ úgy, hogy a stresszorok közül hiányzik az irodalomban leginkább kifogásolt táplálék- és folyadékmegvonás.

Már a CMS korai irodalmában megjelentek olyan feltételezések, melyek szerint a szacharóz hedonikus értéke, illetve a CMS-en átesett állatok hedonikus deficitje annak köszönhető, hogy a teszt során az állatok éheznek. Bár sem az éheztetés, sem a szomjazztatás nem volt extrém hosszú (14 óra, Willner és mtsai 1987), nem elképzelhetetlen, hogy a patkányokban megindított olyan metabolikus változásokat (Kleiber 1947), melyekre csökkent cukorfelvétellel válaszoltak. Teoretikus problémaként vetődik fel, hogy egy egyszerű cukorfogyasztással valóban mérhető-e bármiféle változás a hedonikus állapotban.

Hatcher és mtsai leírják, hogy a csökkent szacharinfogyasztás akkor is megjelenik, ha a szomjazztatás kimarad a protokollból (Hatcher és mtsai 1997), ha azonban az éheztetést hagyták ki, nem tapasztaltak csökkenést (Hatcher és mtsai 1996). Ha az éheztetést időben eltávolították a szacharinteszttől, szintén nem mértek csökkenést. Matthews és mtsai pozitív korrelációt találtak a stresszelt állatok súlya és a megivott cukoroldat mennyisége között, amit úgy magyarázott, hogy a patkányok egyszerűen azért ittak kevesebbet, mert kisebb volt a tömegük (Matthews és mtsai 1995). Ugyanez a kutatócsoport leírta, hogy csak az időnkénti éheztetés, egyéb stresszorok nélkül is csökkenti a cukorfogyasztást, vagyis azt nehezen lehet az anhedónia mérőeszközének tekinteni (Reid és mtsai 1997). Willner kutatócsoportja ellentétes eredményre jutott: krónikus enyhe stressz és 20 órás éheztetés után a cukorfogyasztás csökkent, a táplálékfelvétel és a vízfogyasztás azonban nem (Muscat és Willner 1992). Szerintük a cukorfogyasztás azoknál az állatoknál is csökkent, igaz, kisebb mértékben, amelyeknél nem alkalmaztak táplálékmegvonást. Hasonló eredményeket publikáltak mások is (Griffiths és mtsai 1992, Valverde és mtsai 1997).

A metabolikus hatást kivédendő néhány munkában nem egy, hanem 24 órás cukorfogyasztást mértek, de az eredmények itt is ellentmondások (Ayensu és mtsai 1995, Konkle és mtsai 2003).

Ismert, hogy a patkányok nagy egyéni variabilitást mutatnak a cukorfogyasztásban (Sills és Vaccarino 1994), ami megkérdőjelezi a mérés használhatóságát.

A felsorolt ellenvetéseket is figyelembe véve az állapítható meg az irodalmi hivatkozások alapján, hogy azokban a laboratóriumokban, ahol foglalkoznak krónikus enyhe stressz modellel, túlnyomó többségben a cukorfogyasztás (abszolút érték vagy preferencia) csökkenését mérik (Willner 2005). Willner 2005-ös cikkében, melyben összefoglalja a téma közel húszéves eredményét, javasolja, hogy azok a laboratóriumok is validálják módszerüket a cukorteszttel, ahol egyéb végpont változásával bizonyították a módszer hatásosságát.

A mi kísérletsorozatunk eredményeként a CMS csoport abszolút cukorfogyasztása szignifikánsan kisebb volt, mint a kontrollé, és ez a különbség a CMS teljes ideje alatt fennállt. 4 hétnyi krónikus enyhe stressz után szignifikáns csökkenést tapasztaltunk a stresszelt állatoknál az alap cukorfogyasztáshoz képest. A csökkenés az 5. héten is megmaradt. Azt azonban nem állíthatjuk, hogy a tendencia csökkenő, mivel a 2. és 3. tesztben magasabb értékeket kaptunk, mint az elsőben. Az eltérés az alaptól ezekben a mérési pontokban nem szignifikáns, a kontroll értékekhez képest viszont igen, aminek az az oka, hogy a kontroll állatok cukorfogyasztása sem állandó, hiszen a második és a harmadik tesztben szignifikánsan megnőtt az alaphoz képest. Lehetséges, hogy a természetes preferencia miatt a cukorfogyasztás ismételt prezentációra nő, később az állatok habituálódnak az édes ízhez. Figyelemreméltó, hogy a CMS állatoknál nem tapasztaltunk növekedést az alaphoz képest.

A cukorpreferencia változót azért számoltuk, mert így figyelembe vehetjük azt is, hogy miként változott az állatok cukorfogyasztása a vízhez viszonyítva, hiszen a cukortesztben mindkét folyadék hozzáférhető volt. Megfelelőbbnek tartottuk a kétpalackos tesztet, mint azt a változatot, amikor az állat csak cukros vizet ihat, hiszen a kérdés nem a folyadékfelvétel változásaira, hanem az ismerten nagy hedonikus értékkel bíró cukros víz hedonikus értékelésében bekövetkezett változásokra vonatkozott. Nem szabad elfelejtenünk, hogy a cukorteszteket nem előzte meg hosszú szomjazzatás és éheztetés (mindössze 5 óra), ráadásul a mérések az állatok nyugalmi periódusában (nappal) történtek, amikor egyébként sem esznek és isznak sokat. Ez az elrendezés bizonyos szempontból nehézséget jelent (az irodalomban fellelhető mérések általában hosszabb szomjazzatással és éheztetéssel dolgoznak, így az összehasonlíthatóság ezen irodalmi adatokkal nem feltétlenül adott), viszont fontosnak tartottuk a további kísérletek kivitelezése szempontjából. Hasonlóan rövid idejű megvonással más laboratóriumok is dolgoznak, ezekben a CMS beállítása sikeres (Gronli és mtsai 2004, Bekris és mtsai 2005).

Kísérletünk szempontjából az SP eredménye megnyugtató: a kontroll állatok preferenciája időben nem változott, az abszolút cukorfogyasztással ellentétben egyik mérési pontban sem különbözött szignifikánsan az alap értékétől. A stressz hatása szignifikáns: a CMS csoport értékei majdnem minden pontban jelentősen elmaradnak a kontrollétól. A különbség a 3. tesztben éppen nem szignifikáns (de a trend nem vesz el), a negyedik tesztpontban nincs különbség. A kísérlet alapján elmondhatjuk, hogy a stressz hatására az állatok preferenciája az időben is csökken. A vízfogyasztásban sem az idő, sem a csoport alapján nem találtunk

különbséget (nem ábrázolt adat). A cukorpreferencia változásai arra engednek következtetni, hogy nem valamilyen általános folyadékfelvételi zavar, hanem valóban a hedonikus értékelésben bekövetkezett változás miatt isznak kevesebbet a patkányok krónikus enyhe stressz hatására a cukros vízből. Mivel a CMS protokollunkból hiányzott az éheztetés és a szomjazzatás, a tesztet megelőző megvonás pedig a kontrollt is érintette, kizárhatjuk a metabolikus okokat is.

Meglepő módon a legegértelműbb változást az állatok súlygyarapodásában tapasztaltuk. Az irodalomban megoszlanak a tapasztalatok arról, hogy a CMS-procedúra eredményez-e testsúlycsökkenést vagy stagnálást. Willner és munkatársai csökkenésről számoltak be (Muscat és Willner 1992), de más kutatócsoportok is ezt tapasztalták (Munoz és Papp 1999, Papp és mtsai 2000, Ducottet és mtsai 2003, Bekris és mtsai 2005). Az általuk alkalmazott stresszorok között általában szerepelt relatíve rövid idejű éheztetés, szomjazzatás, de nem minden esetben. Bekris tanulmánya a két talán leggyakrabban használt törzset, a Sprague-Dawley és a Wistar patkányokat hasonlította össze. Míg a cukorfogyasztást illetően különbözött a krónikus enyhe stressznek a két törzsrre gyakorolt hatása, addig a súly mindkét esetben kevésbé gyarapodott (Bekris és mtsai 2005). Nemi különbséget találtak Konkle és munkatársai, vizsgálataiban a hímek tömege kevésbé gyarapodott, mint a kontrolloké, a nőstényeknél nem volt megfigyelhető ez a különbség (Konkle és mtsai 2003).

A változás hiányát is több cikk írja le. Gronli és Sanchez protokolljában szerepelt a táplálékmegvonás (Gronli és mtsai 2005, Sanchez és Papp 2000), a Yalcin által alkalmazottban nem (Yalcin és mtsai 2005), de ez utóbbi egér vizsgálat.

Kismértékű, a szignifikanciát el nem érő növekedésről is találunk adatot (Grippe és mtsai 2003).

Forbes és munkatársainak 1996-os cikke kifejezetten azt vizsgálja, hogy a súlycsökkenés a stresszorok között szereplő éheztetés direkt hatása-e. Feltételezte, hogy a stressz protokollban szereplő éheztetés hatására kialakuló metabolikus változások magyarázzák a csökkent tömegnövekedést és abszolút szacharózfogyasztást. A stresszmentes kontrollt éheztetéssel kombinált és éheztetés nélküli krónikus enyhe stressz procedúrán keresztülment csoportokkal hasonlította össze, a stressz időtartama 6 hét volt. Adataik azt mutatták, hogy csak az éheztetéssel kombinált stressz hatására változott a súlygyarapodás üteme, az éhezés nélküli stressz hatására a patkányok ugyanúgy növekedtek, mint a kontroll (Forbes és mtsai 1996).

Hagan és Hatcher 1997-es cikkükben szintén összehasonlította a táplálékmegvonással kombinált, illetve az ezt a stresszort nem tartalmazó krónikus enyhe stressz eljárást. Az

éheztetésen is keresztülment állatok súlydeficitje kifejezettebb, de kisebb gyarapodást mértek akkor is, amikor nem éhezették az állatokat (Hagan és Hatcher 1997).

Első kísérletsorozatunkban következetes és szignifikáns csökkenést tapasztaltunk a patkányok súlyának növekedésében, bár a mi módszerünkben nem szerepelt éheztetés vagy szomjazzatás. Igaz, a cukorteszt kivitelezéséhez szükséges volt a táplálék és a folyadék rövid idejű megvonása, de ez a kontroll állatok esetében is megtörtént. A kontrollok ennek ellenére normális ütemben gyarapodtak. Súlycsökkenést a CMS hatására nem tapasztaltunk, csak a kontrollhoz képest kisebb gyarapodást.

Szót kell ejteni a krónikus enyhe stressz procedúra hosszáról. Az irodalomban a stressz hossza nagyon változó: háromtól akár tíz hétig is eltarthat. A módszerbeállítás során szerzett tapasztalatok és eredmények szerint három hét alatt stabilá válik az anhedónia, a viselkedésben változások mérhetők. Ebben a kísérletben már egyhétnyi stressz is elegendő volt a mért változók befolyásolásához, az irodalom alapján azonban indokolt a hosszabb stresszelés ahhoz, hogy tartós és stabil hatást váltsunk ki.

Összefoglalásul elmondható, hogy hipotézisünket, miszerint a módosított CMS modell ugyanolyan változást generál a cukorfogyasztásban, mint a Willner és munkatársai által leírt, illetve az irodalomban alkalmazottak, az első kísérlet igazolta. Kísérletünk bizonyítja, hogy a krónikus enyhe stressz eljárás éheztetés nélkül is alkalmas anhedónia kiváltására. A stressz hosszát a további kísérletekben három hétre rövidíthetjük.

A krónikus enyhe stressz hatása a különböző tesztekben mérhető viselkedésre

A kísérlet menete

A CMS-procedúra 3 hétig tartott, elemei megegyeztek a Módszerek és anyagok című fejezetben bemutatott stresszelési eljárás első három hetével. A hedonikus értékelés és az egyéb viselkedésváltozások közötti összefüggések feltárásához egy olyan kísérletet terveztünk, amelyben a kontroll és CMS állatok különböző viselkedéseleit korreláltattuk a cukorfogyasztásukkal. Természetesen ebben a vizsgálatban ismét szükséges volt az alap cukorfogyasztás szerint csoportba sorolni az állatokat, majd a krónikus enyhe stressz végén egy újabb cukortesztet végeztünk.

Egy másik kísérletben a krónikus enyhe stressz által kiváltott viselkedésváltozások időbeli alakulását vizsgáltuk. Ebben a kísérletben már nem mértük a cukorfogyasztás változását.

A viselkedési tesztek különböző időpontokban végeztük, ezt nem lett volna célszerű ugyanazon a csoporton megismételni (az esetleges tanulás miatt), ezért ebben a fejezetben több kontroll és CMS csoport adatait mutatom be. A csoportok elemszámait és az adott csoporthoz tartozó viselkedési tesztek az 5. táblázat tartalmazza. A kísérletek összesített időbeosztását a 6. táblázat mutatja.

Vizsgálatok:

A korrelációvizsgálathoz:

- viselkedés vizsgálata emelt keresztlabirintus, szociális elkerülés és Porsolt tesztben, az önápoló viselkedés (grooming) vizsgálata és cukorteszt közvetlenül a CMS után.

Az időbeli lefutáshoz:

- viselkedés vizsgálata szorongást keltő helyzetben (emelt keresztlabirintus) közvetlenül (2 nappal) a CMS után, a rehabilitáció 2. hetében és 3. hete után,
- szociális viselkedés vizsgálata szociális elkerülés módszerrel közvetlenül (2 nappal) a CMS után, a rehabilitáció 2. hetében és 3. hete után,
- viselkedés vizsgálata Porsolt tesztben közvetlenül (3 nappal) a CMS után, a rehabilitáció 2. hetében és 3. hete után,

- grooming viselkedés vizsgálata közvetlenül a CMS után, a rehabilitáció 2. hetében és 3. hete után.

5. táblázat. A kísérletek időbeosztása

-1. hét	testtömeg mérése, habituáció
1. hét	CMS
2. hét	CMS
3. hét	CMS
4. hét	viselkedési teszt
5. hét	viselkedési teszt
6. hét	
7. hét	viselkedési teszt

6. táblázat. Csoportok és tesztek

csoport, elemszám	tesztek
„A” csoport n (kontroll)=10 n (CMS)=12	emelt keresztlabirintus 1
	Porsolt teszt 3
„B” csoport n (kontroll)=10 n (CMS)=10	szociális elkerülés 1
	emelt keresztlabirintus 2
	grooming 2
„C” csoport n (kontroll)=10 n (CMS)=10	emelt keresztlabirintus 3
	szociális elkerülés 3
„D” csoport n (kontroll)=12 n (CMS)=12	Porsolt teszt 1
	szociális elkerülés 2
„E” csoport n (kontroll)=10 n (CMS)=11	Porsolt teszt 2
	grooming 3
„F” csoport n (kontroll)=9 n (CMS)=10	grooming 1
korrelációvizsgálat n (kontroll)=15 n (CMS)=15	cukorteszt
	emelt keresztlabirintus
	grooming
	szociális elkerülés
	Porsolt teszt

Eredmények

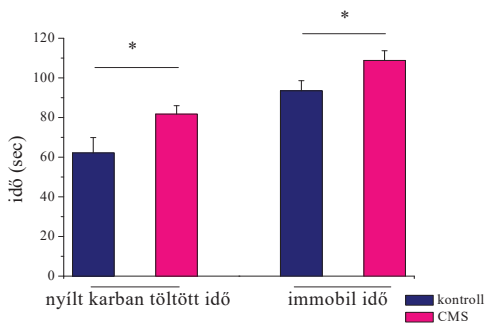
Összefüggések vizsgálata

A viselkedésvizsgálatokat úgy terveztük, hogy a lehető legközelebb essenek a krónikus enyhe stressz végéhez, de ne az akut stressz hatását mérjük. Összesen 15 kontroll és 15 CMS állat adatait értékeltük. A tesztekben mért változók átlagait és az átlag hibáját a Függelék 1. táblázat tartalmazza.

A stressz valamennyi viselkedéstesztben szignifikáns hatással volt a mért változókra. A CMS állatok *cukorfogyasztása* alacsonyabb volt, mint a kontrollé: $F(1,28)=4,34$; $p=0,04$.

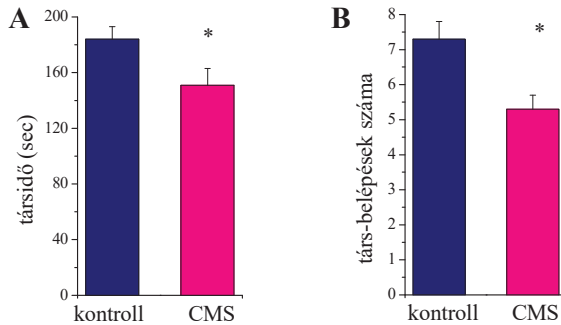
Az *emelt keresztlabirintusban* a CMS állatok több időt töltöttek a nyílt karokban, mint a kontroll: $t=2,21$ és $p=0,03$ (6. ábra). A nyílt és a zárt belépések száma nem különbözött a két csoportban ($t_{\text{nyílt belépés}}=1,48$ és $p=0,15$; $t_{\text{zárt belépés}}=0,14$ és $p=0,89$).

A *Porsolt tesztben* a kontrollok aktívabbak voltak, mint a CMS csoport: $t=2,18$, $p=0,04$ (6. ábra).



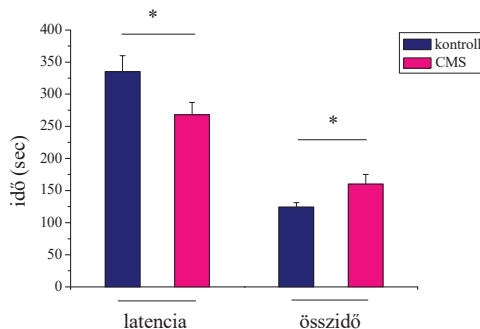
6. ábra. Az emelt keresztlabirintus nyílt karjában töltött idő és a Porsolt tesztben mért immobil idő. * $p<0,05$, $n=15$ minden csoportban, átlag \pm SE.

A *szociális elkerülés tesztben* a CMS patkányok rövidebb ideig tartózkodtak a társ-térfélen, mint a kontroll állatok: $t=2,19$ és $p=0,03$, és kevesebbszer is léptek be oda: $t=2,41$, $p=0,02$ (7. ábra).



7. ábra. A krónikus enyhe stressz hatása a társ-térfélen töltött időre (A) és a belépések számára (B) a szociális elkerülés tesztben. * $p < 0,05$, $n = 15$ mindkét csoportban, átlag \pm SE.

A CMS állatok több időt töltöttek *grooming*gal és hamarabb kezdték el ezt a viselkedést, mint a kontrollok: $t_{idő} = 2,12$ és $p = 0,04$; $t_{latencia} = 2,08$ és $p = 0,04$ (8. ábra).



8. ábra. Az önápoló viselkedés megjelenésének latenciája lecsökkent, a vele töltött idő megnőtt a CMS hatására. * $p < 0,05$, $n = 15$ mindkét csoportban, átlag \pm SE.

A *korrelációvizsgálat* szerint a cukorfogyasztás mértékével csak a szociális elkerülés tesztben mért társ-térfél idő és a társ-térfélre történt belépések száma mutatott szignifikáns összefüggést. A korreláció analízis adatait mutatja a 7. táblázat.

7. táblázat. Összefüggés vizsgálata a cukorfogyasztás és egyéb viselkedéselemek között.

változók	r	p
cukorfogyasztás ↔ társ-térfélen töltött idő	0,38	0,04
cukorfogyasztás ↔ belépések száma a társ-térfélre	0,37	0,04
cukorfogyasztás ↔ immobil idő (Porsolt teszt)	-0,20	0,28
cukorfogyasztás ↔ nyílt karban töltött idő	0,06	0,31
cukorfogyasztás ↔ grooming latenciája	0,24	0,30
cukorfogyasztás ↔ grooming összideje	0,06	0,32

A teljes korrelációanalízis adatait a Függelék 2. táblázat tartalmazza.

Időbeli változások követése

Emelt keresztlabirintus teszt

A kétszempontos (*csoport*a teszt időpontja*) ANOVA csak a stressz hatását mutatta szignifikánsnak a nyílt karban töltött idő esetén (8. táblázat), a CMS állatok – akárcsak az előző kísérletben – több időt töltenek a nyílt karban, mint a kontrollok. A 9. ábrán azt látjuk, hogy a nyílt karban töltött időt tekintve a nyugalmi periódus harmadik hete után nem különbözik számottevően a kontroll és a CMS csoport (a *csoport*a teszt időpontja* interakció nem szignifikáns, ezért nem igazolható, hogy a különbség az idő függvényében megszűnik).

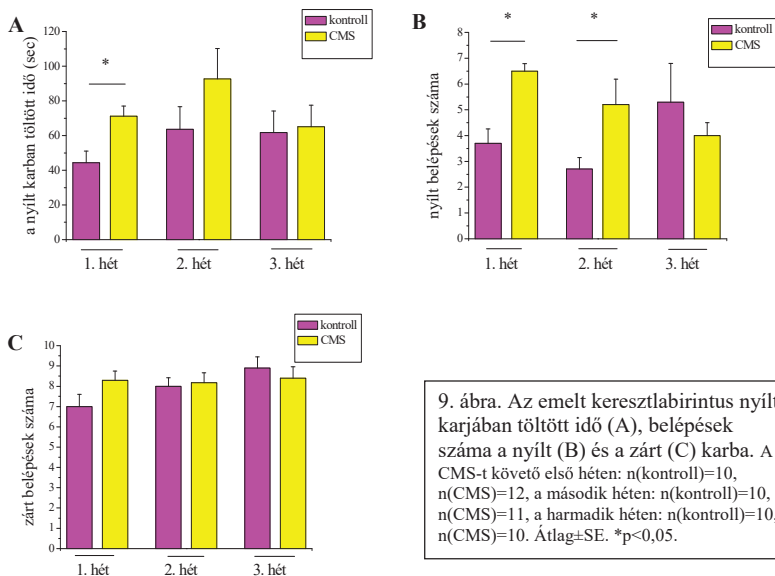
A nyílt belépések számát tekintve a stressz hatása és az interakció is szignifikáns (8. táblázat), vagyis a stressz hatására megjelenő változás megszűnik a CMS csoportban az idő hatására. A Fisher LSD-teszt szerint az első két tesztidőpontban van különbség kontroll és CMS között (első hét=0,02; p_{második hét}=0,03), míg a harmadikban nincs (p=0,27).

A zárt belépések számát tekintve semmilyen szignifikáns hatás nem látható (8. táblázat).

A mért változók átlagát és az átlag hibáját a Függelék 3. táblázat tartalmazza.

8. táblázat. Az emelt keresztlabirintusban számolt statisztikai mutatók. Kétszemponos (csoport, teszt időpontja) ANOVA. A pirossal jelölt értékek statisztikailag szignifikánsak ($p<0,05$).

nyílt karban töltött idő	F	p
csoport (kontroll, CMS)	$F(1,57)=4,67$	0,035
teszt időpontja	$F(2,57)=1,50$	0,23
csoport*a teszt időpontja	$F(2,57)=0,48$	0,62
nyílt belépések száma		
csoport (kontroll, CMS)	$F(1,57)=4,05$	0,04
teszt időpontja	$F(2,57)=1,07$	0,35
csoport*a teszt időpontja	$F(2,57)=3,92$	0,03
zárt belépések száma		
csoport (kontroll, CMS)	$F(1,57)=0,67$	0,42
teszt időpontja	$F(2,57)=1,88$	0,16
csoport*a teszt időpontja	$F(2,57)=1,68$	0,20



9. ábra. Az emelt keresztlabirintus nyílt karjában töltött idő (A), belépések száma a nyílt (B) és a zárt (C) karba. A CMS-t követő első héten: $n(\text{kontroll})=10$, $n(\text{CMS})=12$, a második héten: $n(\text{kontroll})=10$, $n(\text{CMS})=11$, a harmadik héten: $n(\text{kontroll})=10$, $n(\text{CMS})=10$. Átlag \pm SE. * $p<0,05$.

Szociális elkerülés teszt

A társ-térfélen töltött időt elemezve az ANOVA csak a stressz hatását mutatja szignifikánsnak (9. táblázat), a CMS állatok rövidebb időt töltenek a társ-térfélen, mint a kontrollok. A 10.

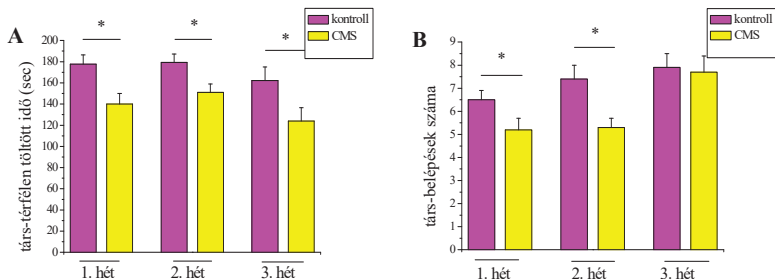
ábrán látható, hogy a *teszt időpontja* és a *csoport*a teszt időpontja* interakció azért nem szignifikáns, mert a CMS csoport értékei mindhárom tesztidőpontban alacsonyabbak, mint a kontrollé, miközben az azonos kezelést kapott csoportok értékei nagyjából állandóak (10. ábra).

A társ-belépések számát tekintve mind a stressznek, mind a teszt idejének hatása szignifikáns változást eredményezett, a *csoport*a teszt időpontja* interakció viszont nem szignifikáns (9. táblázat).

A mért változók átlagát és az átlag hibáját a Függelék 3. táblázat tartalmazza.

9. táblázat. A szociális elkerülés tesztben számított statisztikai mutatók. Kétszemponos (csoport, teszt időpontja) ANOVA. A pirossal jelölt értékek statisztikailag szignifikánsak ($p < 0,05$).

<i>társ-idő</i>	F	p
<i>csoport (kontroll, CMS)</i>	$F(1,59)=17,87$	$<0,01$
teszt időpontja	$F(2,59)=2,52$	0,09
csoport*a teszt időpontja	$F(2,59)=0,16$	0,85
<i>társ-belépés</i>		
<i>csoport (kontroll, CMS)</i>	$F(1,59)=7,86$	$<0,01$
<i>teszt időpontja</i>	$F(2,59)=7,09$	$<0,01$
csoport*a teszt időpontja	$F(2,59)=1,64$	0,20



10. ábra. A szociális elkerülés tesztben mért társ-térfelel töltött idő (A) és a társ-belépések száma (B). Átlag \pm SE, * $p < 0,05$, Student t-teszt. A CMS-t követő első héten: $n(\text{kontroll})=10$, $n(\text{CMS})=11$, a második héten: $n(\text{kontroll})=12$, $n(\text{CMS})=12$, a harmadik héten: $n(\text{kontroll})=10$, $n(\text{CMS})=10$.

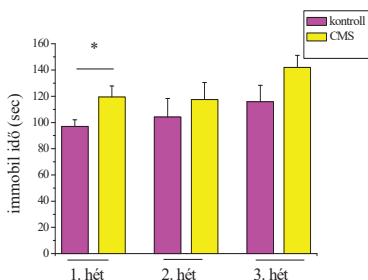
Porsolt teszt

A kétszemponos ANOVA csak a stressz hatását mutatja szignifikánsnak (10. táblázat), a CMS állatok kevésbé aktívak, mint a kontrollok. A 11. ábrán látható, hogy a különbség mindhárom pontban fennmarad, miközben mind a kontroll, mind a CMS csoport értékei enyhe növekedést mutatnak, de ezek a különbségek nem szignifikánsak.

A mért változók átlagát és az átlag hibáját a Függelék 3. táblázat tartalmazza.

10. táblázat. A Porsolt tesztben számolt statisztikai mutatók. Kétszemponos (csoport, teszt időpontja) ANOVA. A pirossal jelölt érték statisztikailag szignifikáns ($p < 0,05$).

<i>immobil idő</i>	F	p
csoport (kontroll, CMS)	F(1,60)=5,45	0,02
teszt időpontja	F(2,60)=2,21	0,12
csoport*a teszt időpontja	F(2,60)=0,18	0,84



11. ábra. Porsolt teszt. Átlag \pm SE. * $p < 0,05$, Student t-teszt. A CMS-t követő első héten: $n(\text{kontroll})=12$, $n(\text{CMS})=12$, a második héten: $n(\text{kontroll})=10$, $n(\text{CMS})=11$, a harmadik héten: $n(\text{kontroll})=10$, $n(\text{CMS})=12$.

Grooming analízis

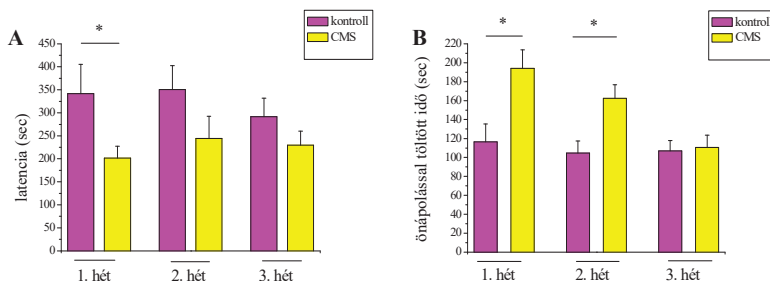
A viselkedés megjelenésének latenciáját elemezve az ANOVA csak a stressz hatását mutatja szignifikánsnak (11. táblázat), a CMS állatok előbb kezdenek önápolásba, mint a kontrollok (12. ábra).

A viselkedés időtartama estén a stressz és a *teszt időpontja* is szignifikáns változásokat eredményez, valamint szignifikáns a *csoport*a teszt időpontja* interakció is (11. táblázat). A CMS állatok hosszabb időt töltenek önápolással, mint a kontrollok, de ez a különbség a harmadik hétre már megszűnik.

A mért változók átlagát és az átlag hibáját a Függelék 3. táblázat tartalmazza.

11. táblázat. A grooming tesztben számolt statisztikai mutatók. Kétszemponos (csoport, teszt időpontja ANOVA). A pirossal jelölt értékek statisztikailag szignifikánsak ($p < 0,05$).

latencia	F	p
csoport (kontroll, CMS)	$F(1,55)=8,05$	$<0,01$
teszt időpontja	$F(2,55)=0,37$	0,69
csoport*a teszt időpontja	$F(2,55)=0,39$	0,68
összidő		
csoport (kontroll, CMS)	$F(1,55)=14,13$	$<0,01$
teszt időpontja	$F(2,55)=4,71$	0,01
csoport*a teszt időpontja	$F(2,55)=3,22$	0,04



12. ábra. Az önápoló viselkedés vizsgálata. A viselkedés megjelenésének latenciája (A) és összideje (B). Átlag \pm SE. * $p < 0,05$, Student t-teszt. A CMS-t követő első héten: $n(\text{kontroll})=9$, $n(\text{CMS})=10$, a második héten: $n(\text{kontroll})=10$, $n(\text{CMS})=11$, a harmadik héten: $n(\text{kontroll})=10$, $n(\text{CMS})=11$.

Megvitatás

Ebben a fejezetben azokat a vizsgálatokat foglaltam össze, amelyek az állatok viselkedését mutatták be különböző tesztekben a krónikus enyhe stressz eljárás után.

Összefüggések vizsgálata

A korrelációvizsgálat kísérleteinek tervezésekor feltételeztük, hogy az általunk használt tesztekben a CMS állatok viselkedése megváltozik a kontrollhoz képest, mivel ezek a tesztek olyan humán viselkedéseket modelleznek, amelyek többnyire károsodnak a depresszióban. Feltételeztük azt is, hogy lehet olyan viselkedéstípus, amelynek megváltozása korrelál a hedonikus értékelésben bekövetkezett változással, vagyis depressziószerű állapotra utaló jelként értelmezhető.

Várákozásainkanak és a szakirodalomnak megfelelően a krónikus enyhe stressz valóban befolyásolta az állatok viselkedését a különböző tesztekben, bár nem minden esetben a várt irányban.

Az *emelt keresztlabirintusban* a nyílt karban töltött idő megnövekedését mértük a CMS-t követően, amit a szakirodalom egyöntetűen a szorongási szint csökkenésével magyaráz (Pellow és mtsai 1985, Pellow 1986, Pellow és File 1986, Moser 1990, Hogg 1996). Sajnos az emelt keresztlabirintus vizsgálatok során nem mértük az egyéb viselkedésjegyek (megdermedés, önápolás, kitekintés, stb.) változásait, pedig azok megerősíthetnék, hogy valóban a szorongás csökkenéséről van-e szó (Cruz és mtsai 1994, Setem és mtsai 1999). Eredményeink összhangban vannak D'Aquila és munkatársainak adataival és Mineur adatainak egy részével (D'Aquila és mtsai 2004, Mineur és mtsai 2006), akik szintén arról számolnak be, hogy a nyílt karban töltött idő megnövekedett CMS hatására. Ugyanakkor a nyílt és zárt belépések számában nem volt statisztikailag szignifikáns különbség, ami arra utal, hogy az állatok mozgásaktivitása nem változott, nem ez okozta a nyílt idő növekedését. Ez az adatunk nem támasztja alá D'Aquila és Mineur eredményeit, mivel az említett cikkekben a mozgásaktivitás növekedéséről számoltak be. A krónikus enyhe stressz mozgásaktivitásra gyakorolt hatásának kérdésében az irodalom rendkívül megosztott, növekedésről és csökkenésről egyaránt vannak adatok (ld. Bevezető). Az emelt keresztlabirintussal végzett következő kísérletünkben mi is némiképp más eredményt kaptunk, hiszen a nyílt belépések száma ekkor megnövekedett, ezt azonban nem kísérte a zárt belépések számának növekedése, vagyis valószínűleg ezt a jelenséget is szorongáscsökkenésként, nem pedig aktivitásnövekedésként kell értelmeznünk. A szorongási szint *csökkenése* egy depressziómodellben meglepő eredmény. Magyarázatára többféle lehetőség is kínálkozik. Egyrészt lehetséges, hogy a hosszas környezeti manipuláció hatására a CMS állatok hozzászoktak a különböző stresszhelyzetekhez, és az emelt keresztlabirintust nem ítélik olyan fenyegető helyzetnek, mint a kontroll állatok. Másrészt Kopp és munkatársai felvetik azt a lehetőséget, hogy a kontrolltól való eltérést nem a szorongási szintben bekövetkezett változás magyarázza, hanem inkább az, hogy az állat érdeklődése tompul a környezete iránt krónikus stressz hatására, így nem a megfelelő (vagy megszokott) választ adja egy megváltozott helyzetre (Kopp és mtsai 1999). Depresszióban megfigyelhető, hogy a változások emocionális feldolgozása romlik, ami oka lehet az érdeklődés hiányának. Korrelációvizsgálatunk nem talált összefüggést a keresztlabirintuson mutatott „alulszorongás” és a hedonikus értékelésben bekövetkezett változás között. Ez arra utal, hogy a CMS eltérő

utakon modulálja a szorongást kiváltó helyzetben adott reakciókat és a hedonikus értékelést. Hasonló eredményről számol be egy egérvizsgálat, amelyben azt tapasztalták a szerzők, hogy a krónikus enyhe stressz hatására kialakuló anhedónia független a szorongási szint változásától (a szorongás O-maze-ben mérve nőtt ebben a kísérletben). A fokozott szorongás itt a krónikus stressz eredménye volt, mert azokon az állatokon is megfigyelték, amelyek nem váltak anhedonikussá (Strekalova és mtsai 2004).

A *szociális elkerülés teszt* eredménye kapcsán fontos megjegyeznünk, hogy a Haller és Bakos által leírt módszert (Haller és Bakos 2002) módosítottuk, hogy jobban megfeleljen a krónikus enyhe stressz protokollnak. Az eredeti teszt kivitelezése előtt a vizsgált patkányokat több napig egyedül tartják, majd az aktív periódusban vizsgálják őket, ezzel csökkentve az egyedek közötti különbségeket. A szakirodalom szerint azonban az izolált tartás nagymértékben befolyásolja a CMS viselkedési kimeneteit (Harro és mtsai 1999, Baker és mtsai 2007), ezért mi ezt nem alkalmaztuk. Eredményeink azt mutatják, hogy a teszt így is használható. Mindkét vizsgált változó csökkent, az állatok társas kapcsolatai sérültek. Csalogató a humán analógiát feltételezni: a depressziós emberek szociális kompetenciája romlik, az esetek túlnyomó többségében visszahúzódóvá válnak. Az embereknél tapasztalható szociális visszahúzódás – számos egyéb ok mellett – azzal is magyarázható, hogy az általános örömvessztés (anhedónia) következményeként a betegek nem lelik örömeiket a társas kapcsolatokban, azok pozitív visszacsatolása csökken vagy megszűnik.

A korrelációvizsgálat szerint a vizsgált viselkedésváltozások közül egyedül a szociális elkerülés tesztben mért adatok korreláltak a cukorfogyasztással, azaz amelyik állat hedonikus értékelése alacsonyabb, az visszahúzódóbb volt a szociális elkerülés tesztben. Ennek alapján kijelenthetjük, hogy bár Leveleki és Haller a szociális elkerülés tesztet annak konstruktív, tüneti és prediktív validitása alapján a generalizált szorongás betegség modelljeként definiálta (Leveleki és mtsai 2006), a teszt alkalmas lehet a krónikus enyhe stressz modell viselkedési kimenetének mérésére és része lehet a depresszió modellezésének is. Természetesen nem tekinthetjük specifikusan depressziószerű állapotot jelző módszernek, mivel eredeti formájában érzékenyen mutatja ki az egyszeri stressz és a szorongásoldók hatását (Haller és Bakos 2002, Haller és mtsai 2003, Leveleki és mtsai 2006).

A *Porsolt tesztet* gyakran alkalmazzák a krónikus enyhe stressz protokoll viselkedési kimenetének vizsgálatára. Többnyire az immobilitás fokozódásáról számolnak be, ami törzstől függő lehet (Bielajew és mtsai 2003, Garcia-Marquex 1987, Strekalova és mtsai

2004). A már idézett Strekalova és munkatársai adataik alapján kijelentik, hogy a Porsolt tesztben mutatott immobilitás összefügg a hedonikus deficittel, mivel a stresszelt, de anhedonikussá nem váló egerek nem mutattak a kontrolltól eltérő viselkedést (Strekalova és mtsai 2004).

Az általunk alkalmazott stresszelési eljárás eredményeként a patkányok Porsolt tesztben mérhető aktivitása lecsökkent, de a korrelációvizsgálat nem mutatott összefüggést az immobil idő és a cukorfogyasztás között, vagyis az egyedek szintjén nem tudjuk igazolni Strekalova eredményeit. Az idevágó szakirodalom alapján a Porsolt teszt egér és patkány változatának ilyen összehasonlítása egyébként sem lenne indokolt.

A *grooming* az állatvilágban széleskörűen elterjedt viselkedés, amely a rácsálók etogramjának is fontos eleme (Berridge 1990). Patkányokban komplex viselkedéssorozat, amely normál körülmények között cefalokaudális irányban halad és olyan egységekből áll, mint pl. a mancsok nyalogatása, a fej körüli mosakodómozdulatok, vagy a farok tisztogatása. (Fentress 1977, Berridge és Aldridge 2000a, Berridge és Aldridge 2000b). Mivel a *grooming* nagyon érzékeny sokféle stresszorra, pszichotrop drogokra és genetikai manipulációkra (Dunn és mtsai 1987, Gerlai és mtsai 1998, Spruijt és mtsai 1992), számos laboratórium foglalkozott vizsgálatával (Crowley és mtsai és mtsai 1997, Van Erp 1995, Kalueff 2000). A rácsálók életében a *grooming* fontos szerepet játszik a stressz adaptációban, mind a megküzdés, mind a megnyugvás terén (Kametani 1988, Sachs 1988).

A „kényelmi” (*comfort*) *grooming* spontán vagy nagyon enyhe stressz hatására megjelenő viselkedés, többnyire a pihenés és az aktív viselkedési periódusok közötti átmenet (Kalueff 2000). Ha a *groomingot* stressz, szorongást keltő helyzet váltja ki (*stress grooming*), az megjelenésében különbözik a „kényelmi” *groomingtól*: gyors, rövid, ismétlődő elemekből áll (Moyaho és Valencia 2002).

A *grooming* tesztnek az általunk alkalmazott változata (az állatot nem éri egyéb stressz, mint az új hely) az állat általános emocionális állapotáról ad információt, hiszen az akut stressz nagyon kis mértékű. A krónikus enyhe stressz hatására a *grooming* viselkedés hamarabb jelent meg az új környezetbe kerülést követően, és tovább is tartott, mint a kontroll állatoknál. A szakirodalom szerint az önápoló viselkedés korai megjelenése, illetve a viselkedés hosszának növekedése szorongásszerű állapotra utal (Dunn és mtsai 1987, Kalueff és Tuohimaa 2005), ez éppen ellentétes az emelt keresztlabirintuson tapasztalttal. Elképzelhető, hogy a krónikus enyhe stresszen átesett állatok számára (az elháríthatatlan stresszsorozat miatt) egy olyan változás, ami a kontrolloknak még nem szorongást keltő, fokozott

aggodalmat okoz. Ezt a fokozott aggodalmat oldják a stressz groominggal, majd felismerve, hogy a helyzet veszélytelen, komfort groomingba kezdenek (Kametani 1988, Sachs 1988, Kalueff 2000).

A korrelációvizsgálat eredménye szerint az önápoló viselkedés megváltozása nem függ össze szorosan a hedonikus értékelés változásával, vagyis valószínűleg nem depressziószerű jelenség, hanem a stressz eredménye.

Időbeli változások követése

Az irodalom (Willner 1997) alapján feltételeztük, hogy egyes viselkedésváltozások a krónikus enyhe stressz befejezése után hosszabb távon is megmaradnak. A kísérletorozat eredményei nem egyértelműek.

Az *emelt keresztlabirintus tesztben* a stressz a korábban tapasztalt hatást eredményezte, amennyiben a CMS állatok nyílt karban töltött ideje megnőtt. Az ábrát vizsgálva úgy tűnik, hogy ez a hatás a CMS-t követő harmadik héten már eltűnik, a két oszlop között nincs különbség. Mivel azonban az ANOVA a *csoport*a teszt időpontja* interakciót nem mutatja szignifikánsnak, a hatás időbeli alakulásáról nem mondhatunk biztosat. Ahogy az ábrán is látszik, mind a kontroll, mind a CMS csoport nagyon különböző értékeket vehet fel ennek a tesztnek a során. A nyílt belépések esetében a statisztika is igazolja, hogy a krónikus enyhe stressz okozta különbség a harmadik hétre megszűnik, de az ábrán az is látható, hogy éppen ebben a mérési pontban a kontroll csoport értéke is jelentősen különbözik a korábbiaktól. Bár az előző kísérletben nem tapasztaltuk a nyílt belépések számának szignifikáns növekedését, az irodalomban találunk ilyen adatot (D'Aquila és mtsai 2004, Mineur és mtsai 2006).

Lehetséges, hogy nagyobb elemszámmra, vagy több tesztelési pontra lett volna szükség ahhoz, hogy értékelhető eredményeket kapjunk az emelt keresztlabirintus teszten. Véleményem szerint azonban a sikertelenség fő oka az, hogy a krónikus enyhe stressz hatása az emelt keresztlabirintuson mérhető viselkedésre nem olyan erőteljes, hogy megbízhatóan követhető legyen.

A *szociális elkerülés teszt* eredménye csak látszólag nagyon hasonló: a stressz hatása ebben az esetben is szignifikáns, míg a *csoport*a teszt időpontja* interakció nem. Alaposabban megvizsgálva az ábrákat és az adatokat elmondhatjuk, hogy a társ-térfelel töltött idő esetében azért nincs hatása sem az időfaktornak, sem az interakciónak, mert a három tesztidőpontban

sem a kontroll, sem a CMS csoport viselkedése nem változik (a CMS csoport mindvégig kevesebb időt tölt a társ-térfele). Vagyis ebben az esetben kijelenthető, hogy a szignifikancia hiánya azt jelenti, hogy a krónikus enyhe stressz hatása még három héttel a CMS vége után is mérhető. Ez az eredmény megerősíti azt a feltételezést, hogy a szociális elkerülés teszt alkalmas lehet a krónikus enyhe stressz modell viselkedési kimenetének mérésére, valamint azt is, hogy a szociális visszahúzódas szoros kapcsolatban áll a stressz protokoll hatására kialakult depressziószzerű állapottal. Felvetődik a kérdés, hogy vajon a humán depresszió viszonya milyen a szociális szorongással (SAD), illetve a szociális visszahúzódással jellemezhető magatartással. Az úgynevezett negatív tünetek, mint az anhedónia és a szociális deficit (szociális szorongás, az intimitásra való képtelenség) más pszichiátriai (pl. skizofrénia, táplálkozási zavarok, bipoláris zavar), sőt neurológiai betegségeknek is (Parkinson kór) jellemző tünetei (Ellenbroek és Cools 2000, Winograd-Gurvich és mtsai 2006). Ismert az is, hogy a szociális szorongás (SAD) és a depresszió gyakran komorbidak skizofréniával, táplálkozási zavarokkal, Asperger-szindrómával (Schneier és mtsai 2002).

A társ-belépések számára gyakorolt hatás nem ilyen egyértelmű, mivel a harmadik mérési pontban a kontroll értékei magasabbak, mint az előző két mérés alkalmával. Így nem állíthatjuk, hogy a stressz hatása megszűnt a harmadik héten, de azt sem, hogy megmaradt.

A *Porsolt teszt* eredményeinek értelmezése ismét nehéz helyzet elé állít: bár az ábrát vizsgálva úgy tűnik, a kezdeti CMS-hatás az idő múlásával eltűnik, valójában az ANOVA ezt nem támasztja alá. Az ok hasonló, mint az emelt keresztlabirintus esetében: az azonos kezelési csoportok is olyan különböző átlagértékeket mutathatnak, hogy a kontroll és a CMS közötti különbség hiányát nem feltétlenül magyarázza az idő múlása. Ahogy az emelt keresztlabirintusnál, úgy itt is azt látjuk, mintha a kontroll csoportok értékei növekednének az idővel, de ez valójában nem az idő hatása, hanem a különböző mérési napok és csoportok által hordozott variancia.

A *grooming teszt* eredménye végre olyan, mint amire számítottunk. A viselkedés összideje a CMS csoportban az idő függvényében csökken, a harmadik héten már nem különbözik a kontroll értéktől, miközben a kontroll csoport értékei nem változnak. Elmondhatjuk, hogy a CMS-indukálta grooming növekedés a CMS végét követő második héten még fennáll, a harmadik hétre azonban megszűnik, a viselkedés normalizálódik. A latencia alakulása hasonló, de – a nagyobb egyedi különbségek miatt – statisztikai szignifikancia nem mutatható ki.

Az eredmények arra utalnak, hogy az önápoló viselkedés változása érzékeny mutatója lehet az állatok emocionális állapotának, bár a változások értelmezése további kísérleteket tenne szükségessé. Ismert, hogy egyes szorongásoldók és antidepresszánsok is növelik a groominggal töltött időt, valószínűleg ilyenkor a komfort grooming jelenik meg (Ducottet és mtsai 2003, Griebel és mtsai 2002a, b). Ennek eldöntésére érdemes a viselkedés mikrostruktúráját elemezni.

Antidepresszáns és szorongásoldó kezelés hatásának vizsgálata

A kísérlet menete

A vizsgálatokban (a kísérlet kezdetén) 240-260 g tömegű hím Wistar patkányok vettek részt. A kísérleti csoportok elemszámait a 12. táblázat tartalmazza. Az anyagkezelés a CMS ideje alatt reggel (9:00) történt, a később diazepammal kezelt állatok ekkor oldószert kaptak. A fluoxetint a továbbiakban is reggel adtuk, a diazepamot azonban a teszt előtt fél órával. Mivel a diazepam legkisebb hatékony dózisa tesztenként eltérő, az alkalmazott dózist az adott tesztnél írom le.

Vizsgálatok:

- krónikus (23 napos) fluoxetin kezelés hatásának vizsgálata emelt keresztlabirintus, Porsolt, szociális elkerülés és grooming tesztben 3 hetes krónikus enyhe stressz után,
- akut diazepam kezelés vizsgálata emelt keresztlabirintus, Porsolt, szociális elkerülés és grooming tesztben 3 hetes krónikus enyhe stressz után.

12. táblázat. Kezelési csoportok

kezelési csoportok (íp. kezelés)
kontroll + oldószert, n=9
kontroll + 3 mg/kg fluoxetin, n=10,
kontroll + diazepam (dózisa tesztenként eltérő), n=10
CMS + oldószert, n=10
CMS + 3 mg/kg fluoxetin, n=10
CMS + diazepam (dózisa tesztenként eltérő), n=10

Eredmények

Emelt keresztlabirintus

Egyéb kísérletekből származó tapasztalataink szerint a diazepam 3 mg/kg ip. dózisban szorongásoldó hatást fejt ki ezen a teszten, ezért a diazepamoz csoportok ezt a dózist kapták.

Fluoxetin kezelés hatása (13. táblázat). A nyílt karban töltött idő esetén az ANOVA csak a stressz hatását mutatja szignifikánsnak: a CMS állatok több időt töltenek a nyílt karokban, mint a kontrollok. Bár a fluoxetinnel kezelt CMS csoport átlagos ideje alacsonyabb ($49,6 \pm 9,2$ sec), mint az oldószerrel kezelt CMS csoporté ($72,3 \pm 9,7$ sec), a különbség nem éri el a szignifikáns szintet.

A nyílt belépések számában semmilyen szignifikáns különbség nem mutatható ki, míg az összes belépések számát vizsgálva egyedül a fluoxetin kezelés hatása szignifikáns: az antidepresszánsal kezelt CMS csoport valamivel többet lépett be a karokba, mint oldószeres kontrollja.

Diazepam kezelés hatása (13. táblázat). Az ANOVA nem talált szignifikáns különbséget egyik mért változó tekintetében sem, bár az oldószerrel kezelt CMS csoport átlagos ideje (72 ± 11 sec) és a diazepammal kezelt kontroll csoport ideje (80 ± 11 sec) egyaránt magasabb, mint az oldószerrel kezelt kontroll csoport ideje (41 ± 12 sec).

13. táblázat. Az emelt keresztlabirintus teszt eredménye. Kétszempontos (stressz, anyagkezelés) ANOVA. A pirossal jelölt értékek statisztikailag szignifikánsak ($p < 0,05$).

<i>oldószer-fluoxetin</i>	F(1,34)	p
nyílt karban töltött idő		
stressz	4,27	0,04
anyag	1,33	0,26
stressz*anyag	1,54	0,22
nyílt belépések száma		
stressz	1,35	0,25
anyag	0,15	0,71
stressz*anyag	0,24	0,63
zárt belépések száma		
stressz	0,80	0,38
anyag	5,21	0,03
stressz*anyag	0,13	0,72
<i>oldószer-diazepam</i>	F(1,35)	p
nyílt karban töltött idő		
stressz	0,94	0,34
anyag	2,75	0,11
stressz*anyag	2,89	0,10
nyílt belépések száma		
stressz	1,44	0,24
anyag	1,77	0,19
stressz*anyag	0,09	0,76
zárt belépések száma		
stressz	1,42	0,24
anyag	1,21	0,28
stressz*anyag	0,37	0,54

Az emelt keresztlabirintus tesztben mért adatokat a Függelék 4. táblázat tartalmazza.

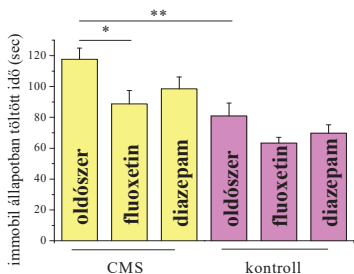
Porsolt teszt

A diazepam dózisa 3 mg/kg volt.

Fluoxetin kezelés hatása (14. táblázat, 13. ábra). Mind a stressz, mind az anyagkezelés szignifikáns hatású volt ebben a vizsgálatban: a CMS állatok hosszabb időt töltöttek passzív állapotban, mint a kontrollok, de a fluoxetin kezelés hatására mind a kontroll, mind a CMS csoportok aktivitása növekedett. A CMS csoportok közötti különbség szignifikáns.

Diazepam kezelés hatása (14. táblázat, 13. ábra). A CMS ebben az esetben is a szokásos módon működött: az oldószerrel kezelt CMS csoport immobil ideje hosszabb, mint a többi

csoporté. A diazepam mind a kontroll, mind a CMS csoport aktív viselkedését emelte kissé, de csak a CMS csoport esetén érte el a trend szintjét ($p=0,07$; Fisher-LSD-teszt).



13. ábra. Anyaghatás a Porsolt tesztben. Átlag \pm SE. * $p<0,05$, ** $p<0,01$.

14. táblázat. A Porsolt tesztben számolt statisztikai mutatók. Kétszemponos (stressz, anyagkezelés) ANOVA. A pirossal jelölt értékek statisztikailag szignifikánsak ($p<0,05$).

<i>oldőszer-fluoxetin</i>	F(1,35)	p
immobil idő		
stressz	18,64	<0,01
anyag	10,44	0,03
stressz*anyag	0,64	0,43
<i>oldőszer-diazepam</i>	F(1,35)	p
immobil idő		
stressz	20,60	<0,01
anyag	4,42	0,04
stressz*anyag	0,31	0,58

A Porsolt tesztben mért adatokat a Függelék 4. táblázat tartalmazza.

Szociális elkerülés teszt

A diazepam dózisa 1 mg/kg volt.

Fluoxetin kezelés hatása (15. táblázat, 14. ábra). Az idő tekintetében a stressz és az anyagkezelés interakciója szignifikáns hatást mutat: az oldőszerrel kezelt CMS csoport rövidebb ideig tartózkodott a társ-térfélen, mint az oldőszerrel kezelt kontroll csoport ($p=0,04$; Fisher LSD-teszt), de a fluoxetin kezelés ezt az időt a CMS csoport esetén szignifikánsan növelte ($p=0,02$; Fisher LSD-teszt).

A társ-belépések számát vizsgálva a kép hasonló: az oldószerral kezelt CMS csoport belépéseinek száma alacsonyabb, mint az oldószerral kezelt kontroll csoporté ($p=0,04$; Fisher LSD-teszt), de ezt a változást a fluoxetin ellensúlyozza ($p<0,01$; Fisher LSD-teszt)

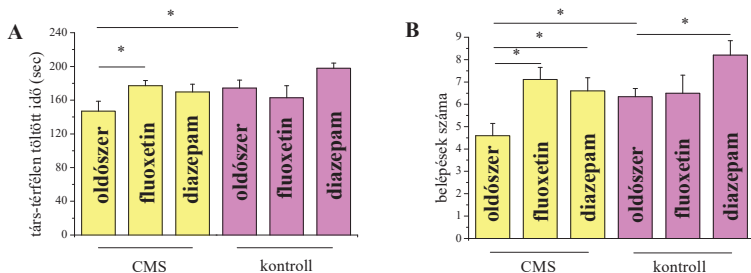
Diazepam kezelés hatása (15. táblázat, 14. ábra). A CMS hatására ebben az elrendezésben is csökkent a CMS csoport társ-térfelel töltött ideje. Mind a kontroll, mind a CMS csoportok idejét növelte a diazepam kezelés, bár ez a hatás nem volt szignifikáns. A belépések számát a CMS csökkentette, de a diazepam kezelés mind a kontroll, mind a CMS csoportok esetén növelte.

15. táblázat. A szociális elkerülés tesztben számolt statisztikai mutatók. Kétszemponos (stressz, anyagkezelés) ANOVA. A pirossal jelölt értékek statisztikailag szignifikánsak ($p<0,05$).

<i>oldószerek-fluoxetin</i>	F(1,34)	p
társ-idő		
stressz	0,44	0,51
anyag	1,49	0,23
stressz*anyag	5,31	0,03
társ-belépés		
stressz	0,99	0,32
anyag	6,02	0,20
stressz*anyag	4,72	0,04
<i>oldószerek-diazepam</i>	F(1,34)	p
társ-idő		
stressz	14,22	0,01
anyag	4,18	0,49
stressz*anyag	0,28	0,60
társ-belépés		
stressz	10,47	0,03
anyag	11,24	0,02
stressz*anyag	0,01	0,95

A szociális elkerülés tesztben mért adatokat a Függelék 4. táblázat tartalmazza.

A 14. ábra szemléletesebben mutatja a szociális elkerülés teszt eredményét.



14. ábra. A társ-térfelel töltött idő (A) és a társ-belépések száma (B). Átlag \pm SE. * $p<0,05$, ** $p<0,01$.

Grooming teszt

A diazepam dózisa 1 mg/kg volt.

Fluoxetin kezelés hatása (16. táblázat). A CMS hatására az önápoló viselkedés megjelenésének latenciája szignifikánsan lecsökkent ($p=0,01$; Fisher LSD-teszt). A fluoxetin kezelés a kontroll csoport latenciáját nem befolyásolta, míg a CMS csoport latenciája megnőtt ($p<0,01$). A viselkedés összideje a CMS hatására az eddig tapasztaltaknak megfelelően megnövekedett ($p<0,01$; Fisher LSD-teszt). Az antidepresszáns hatására a CMS csoport ideje csökkent, de a változás nem szignifikáns ($p=0,07$; Fisher LSD-teszt), míg a kontroll csoportban szignifikáns *növekedést* mértünk ($p=0,01$; Fisher LSD-teszt).

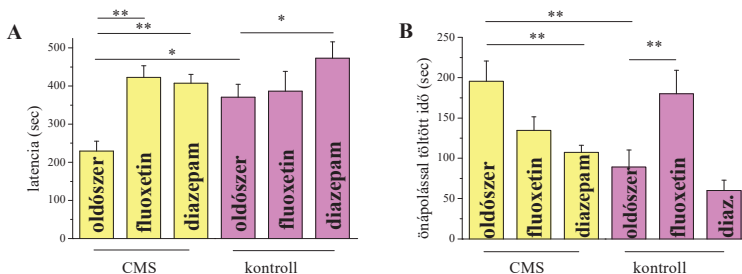
Diazepam kezelés hatása (16. táblázat). A diazepam kezelés hatására a latencia megnövekedett, míg a viselkedés összidejét csak a CMS csoportban csökkentette szignifikáns módon ($p<0,01$; Fisher LSD-teszt).

A grooming tesztben mért adatokat a Függelék 4. táblázat tartalmazza.

16. táblázat. A grooming tesztben számolt statisztikai mutatók. Kétszemponos (stressz, anyagkezelés) ANOVA. A pirossal jelölt értékek statisztikailag szignifikánsak ($p < 0,05$).

<i>oldószer-fluoxetin</i>	F(1,35)	p
latencia		
stressz	2,02	0,16
anyag	7,97	<0,01
stressz*anyag	5,70	0,02
összes idő		
stressz	1,66	0,21
anyag	0,40	0,53
stressz*anyag	10,28	<0,01
<i>oldószer-diazepam</i>		
latencia		
stressz	10,15	<0,01
anyag	18,70	<0,01
stressz*anyag	1,37	0,25
összes idő		
stressz	18,25	<0,01
anyag	10,64	<0,01
stressz*anyag	2,68	0,11

A 15. ábra a grooming teszt eredményét mutatja be.



15. ábra. A grooming tesztben mért latencia (A) és az önápolás összideje (B). Átlag \pm SE. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$.

Megvitatás

A szakirodalomban a legtöbb adatot az antidepresszáns kezelés hatékonyságáról a cukorfogyasztással kapcsolatban találjuk. A CMS-irodalomban szokatlan mérvű a konszenzus: krónikus antidepresszáns kezelés visszaállítja a normális szintet. Igaz ez a klinikumban használt eltérő szerkezetű és hatásmechanizmusú drogok esetében, de számos sikeres kísérletről számolnak be preklinikai vagy klinikai fázisban lévő antidepresszáns-jelölttel is (ld. Bevezető, Muscat és mtsai 1992, Moreau és mtsai 1994, Sluzewska és Szczawinska 1996, Marona-Lewicka és Nichols 1996, Papp és mtsai 1996, 2003, Kopp és mtsai 1999, Millan és mtsai 2001, Montgomery és mtsai 2001, Harkin és mtsai 2002, Griebel és mtsai 2002a,b, Ducottet és mtsai 2003, Song és mtsai 2006, Grippo és mtsai 2006). Az antidepresszánsok egyéb viselkedéskimenetekre gyakorolt hatását már jóval kevesebben vizsgálták, s ezek is főként egérkísérletek.

Az emelt keresztlabirintus teszt eredménye több szempontból nem felelt meg várakozásainknak.

Ahogyan a korábbi kísérletekben, ezúttal is azt tapasztaltuk, hogy az általunk alkalmazott krónikus enyhe stressz hatására az emelt keresztlabirintuson mérhető viselkedés „alulszorongó”, vagy „anxiolitikus-szerű”, amire találunk példát a szakirodalomban (D’Aquila és mtsai 1994, Mineur és mtsai 2006). Feltételeztük, hogy ha ez a depressziószerű állapot következménye, akkor a krónikus fluoxetin kezelés normalizálja a viselkedést, míg a diazepam kezelés nem lesz rá hatással. A kontroll csoportoknál viszont azt vártuk, hogy a szorongásoldó megemeli a nyílt karokban töltött időt és/vagy a nyílt belépések számát, a fluoxetin kezelés viszont nem változtatja a viselkedést.

Ezzel szemben a krónikus fluoxetin kezelés hatására a CMS patkányok ugyan kevesebb időt töltöttek a nyílt karban, az átlagos érték közelebb van a kontroll csoport adataihoz, de az oldószerrel kezelt CMS csoporttól nem különbözik szignifikánsan, ahogyan a nyílt belépések száma sem. Érdekes, hogy a zárt belépések száma szignifikánsan növekedett a fluoxetin hatására, ez arra utal, hogy az állatok mégis preferálták a zárt kart. A diazepam nem változtatta a CMS állatok viselkedését, ami érv amellett az elképzelés mellett, hogy az állatok nem a csökkent szorongási szint, hanem egyfajta dezorientáltság miatt vannak többet a nyílt karban a krónikus enyhe stressz után. Azt a magyarázatot, hogy a nyílt karban töltött időt már nem lehet tovább emelni, vagyis valamiféle plató effektust látnánk, számos egyéb vizsgálat

cáfolja (a diazepam dózist szándékosan alacsonynak választottuk, de „normális” állapotokban ez is hasonló nagyságú változást eredményezett).

A fluoxetin hatástalanságára kísérletünkben több magyarázat is kínálkozik. Az előző fejezetben bemutatott korrelációvizsgálat eredménye valószínűsíti, hogy a labirintuson mutatott viselkedés megváltozása nincs direkt kapcsolatban a depressziószerű állapottal, ezért a fluoxetin antidepresszáns hatása nem érvényesül. Másrészt elképzelhető, hogy a krónikus enyhe stressz modell vizsgálata során nem elegendő az általában szokásos, csoportonkénti 8-12-es elemszám ahhoz, hogy stabil, statisztikailag szignifikáns hatást tudjunk kimutatni. A kérdés tisztázásához további kísérletekre lenne szükség.

A kontroll csoportokban az anyagkezelés hatása olyan volt, mint amit más vizsgálatok és a szakirodalom alapján vártunk: a klasszikus benzodiazepin típusú szorongásoldó vegyület, a diazepam hatására az állatok több időt töltöttek a nyílt karban, valamint többször is léptek ki oda, bár ez utóbbi hatás nem volt szignifikáns. (A kétszemponos ANOVA nem mutatta a diazepam kezelés hatékonyságát, ha azonban csak az oldószeres kontrollt és a diazepammal kezelt kontrollokat hasonlítjuk össze, a szorongásoldó hatás egyértelmű.)

Meglepő módon az irodalom megosztott egy olyan gyakran vizsgált drog, mint a fluoxetin hatásának interpretálásában. Bár talán több adat utal arra, hogy krónikus adagolás esetén a fluoxetin anxiogén hatású az emelt keresztlabirintuson (Silva és mtsai 1999, Schulz és mtsai 2007), szép számmal akad olyan is, amely szerint sem anxiogén, sem anxiolitikus-szerű hatás nem mérhető (Griebel és mtsai 1999, Silva és Brandao 2000), de olyan is, amely a szorongás csökkenését valószínűsíti (Kurt és mtsai 2000). A mi adataink szerint a nem stresszelt állatok esetén nincs hatása a krónikus fluoxetin kezelésnek az emelt keresztlabirintuson mérhető viselkedésre.

Az *erőltetett úszás* tesztben is a szakirodalomból ismert és általunk korábban is megfigyelt változást láttuk a CMS patkányok viselkedésében: kevésbé voltak aktívak, mint a nem stresszelt társaik. Meglepő módon a krónikus fluoxetin kezelés hatása kevéssel alatta maradt a szignifikáns szintnek a kontroll állatok esetén: a szakirodalom és saját tapasztalataink alapján szignifikáns változást vártunk (Detke és mtsai 1997). A diazepam kezelés nem változtatta a kontroll állatok immobil idejét, ez az eredmény viszont összhangban van az irodalmi referenciákkal (Cryan és mtsai 2005).

A CMS állatok viselkedését a fluoxetin a várt módon befolyásolta: megnőtt a mozgással töltött idő, amit antidepresszáns hatásként interpretálunk. Akut diazepam kezelés hatása hasonló volt, bár a statisztikai szignifikanciát nem érte el a változás. Hasonló képet vártuk,

amikor feltételeztük, hogy a krónikus enyhe stressz protokoll depressziószerű állapotot hoz létre, amit egy klinikailag hatékony antidepresszáns krónikus adagolásával ellensúlyozni tudunk. Mivel a Porsolt teszt erősen averzív helyzet a patkányok számára, nem zárható ki, hogy – legalábbis az állatok egy részénél – anxiolitikus hatású vegyület is befolyásolja a viselkedést. Ráadásul ismerve a depresszió és a szorongás komorbiditását emberben, valószínűsíthetjük, hogy egy stresszsalapú depressziómodell állatokban sem lesz mentes a szorongásszerű tünetektől.

A *szociális elkerülés* teszt oldószeres csoportjainak (CMS – kontroll) összehasonlítása megerősíti, hogy a krónikus enyhe stressz ebben a kísérleti sorozatban is a már megszokott módon működött, vagyis stabilnak, reprodukálhatónak minősíthető.

A kontroll állatokra nem volt hatással a fluoxetin, a diazepam azonban megnövelte a társ-térfelel töltött időt (de ez a különbség nem szignifikáns!) és a belépések számát is. A diazepam hatása nem meglepő: az ezzel kezelt állatok a szorongásoldó hatás eredményeként kevésbé tartottak az új környezettől, mint az oldószerrel kezelték. Ismert, hogy a diazepam növeli a szociális interakciók számát a szociális interakció tesztben is (Cheeta és mtsai 2001, Rex és mtsai 2004).

A fluoxetin akut adagolása csökkenti a szociális interakciók számát a hagyományos szociális interakció tesztben (Bagdy és mtsai 2001, Cheeta és mtsai 2001), krónikus adagolás hatása ellentmondó. A krónikus adagolás Nelson szerint csökkenti az aktivitást porond tesztben (Nelson és mtsai 1997), Dulawa viszont az ellenkezőjéről számol be (Dulawa és mtsai 2004). A kevés szakirodalmi adat alapján leginkább azt tűnik valószínűnek, hogy a krónikus fluoxetin kezelés nincs hatással a szociális elkerülés tesztben mérhető viselkedésre stresszeten állatok esetén. Adataink ezt az elképzelést alátámasztják.

A CMS csoportok szociális viselkedését a fluoxetin és a diazepam is helyreállította, bár a diazepammal kezelt csoportban a társ-térfelel töltött idő növekedése nem volt statisztikailag szignifikáns. A teszt eredeti változatában, ahol a szociális elkerülést áramütésekkel váltották ki, akut fluoxetin alacsony dózisa és alacsonyabb diazepam dózis is hatékony volt (Leveleki és mtsai 2006). A szerzők ezért is hangsúlyozzák, hogy a szociális elkerülés teszt jó modellje lehet a generalizált szorongás betegségnek, mivel olyan klinikailag hatékony molekulák hatását is képes kimutatni (buspiron, fluoxetin), amelyek más anxiolitikus tesztekben esetleg nem voltak hatásosak. Azok a tesztek, amelyekben az akut adagolású fluoxetin anxiogén hatását tapasztalták, általában az állatok természetes félelmén alapulnak (emelt keresztlabirintus, porond) és nem valamilyen előzetes stressz hatását vizsgálják, pedig ez

utóbbi megközelítés valószínűleg közelebb áll a humán szorongáshoz (Silva és Brandao 2000, Drapier és mtsai 2007). Azt azonban Haller és munkacsoportjának eredményei alapján nem zárhatjuk ki, hogy a teszt módosított változata, amelyben az előzetes kezelés nem intenzív elektromos sokk, hanem krónikus enyhe stressz, ne lenne érzékeny az antidepresszáns hatásra (Haller és Bakos 2002, Haller és mtsai 2003, Leveleki és mtsai 2006). Mivel a diazepam hatása hasonló a krónikus fluoxetinéhez (bár kevésbé robosztus), sajnos azt sem mondhatjuk, hogy a módosított teszt szelektív lenne az antidepresszáns hatásra. Érdeemes lenne megvizsgálni, hogy azok az állatok, amelyek a krónikus enyhe stressz hatására anhedóniát és szociális elkerülést mutatnak, jobban reagálnak-e a fluoxetinnel, mint a diazepamra, vagy nem létezik ilyen különbség.

A krónikus enyhe stressz szakirodalmában nagyon kevés a *grooming*ot vizsgáló kísérlet. Bár a stressz általában kiváltja a „stressz groomingot”, a csökkent szorongási szint is vezethet erre az eredményre (Kalueff és Tuohimaa 2005), ez a viselkedés valószínűleg a kényelmi grooming. Anxiolitikumok hatására a grooming viselkedéssel töltött idő nőhet. Kalueff 2005-ben megjelent cikkében arról számol be, hogy egy erősebb stresszhelyzet hatására a patkányok hamarabb kezdték el az önápoló viselkedést, és az tovább is tartott, mint egy kevésbé erős stresszor hatására. A legnagyobb különbséget azonban a mintázatban mérték. Bagdy és munkatársai anxiogén jelnek tekintik, hogy akut fluoxetin kezelés megnövelte az önápolással töltött időt (Bagdy és mtsai 2001).

Vizsgálatunk adatai szerint a krónikus enyhe stressz megváltoztatja a grooming viselkedés makrostruktúráját, mert a viselkedés hamarabb jelenik meg és összességében tovább tart a teszt ideje alatt. A kontroll csoportokban az anxiolitikus vegyület nem befolyásolta a viselkedés időtartamát, de csökkentette a megjelenés latenciáját. A krónikus fluoxetin kezelés ellenben jelentősen megnövelte az időtartamot anélkül, hogy változtatta volna a latenciát. Egyéb adatok híján nehéz lenne pontosan megmagyarázni ezeket a változásokat. Mivel a krónikus fluoxetin kezelés hatásáról akár porond tesztben, akár szorongást keltő helyzetben nagyon ellentmondóak a szakirodalmi adatok, nem állíthatom, hogy azért tapasztaltunk növekedést a grooming viselkedésben, mert érvényesült a fluoxetin anxiolitikus hatása (anxiolitikus hatásra utalnak Dulawa és mtsai (2004) és Leveleki és mtsai (2006) adatai, valamint az a tény, hogy ezt a gyógyszert szorongásos megbetegedésekben is használják), de azt sem, hogy a fluoxetin antidepresszáns hatása miatt növekedett volna meg a groominggal töltött idő (mint arra Griebel és mtsai 2002a,b) vizsgálatai alapján következtethetnék. Vannak

arra utaló adatok is, melyek szerint a krónikus fluoxetin kezelés is lehet anxiogén egyes helyzetekben (Silva és mtsai 1999, Schulz és mtsai 2007), így ez is magyarázhatná a jelenséget. A kérdés eldöntéséhez nyilvánvalóan további mérések és a mikrostruktúra elemzése is szükséges.

A CMS csoportokat illetően egyértelműbb a kép, még ha nem is felel meg előzetes várakozásunknak. Mindkét drog megemelte a latenciát, a diazepam szignifikánsan csökkentette a viselkedéssel töltött időt, míg a fluoxetin kezelés hatása trendszerű. Ebből arra következtethetünk, hogy a grooming tesztben a krónikus enyhe stressz eljárás szorongást generáló aspektusa jelenik meg, amit mind a klasszikus anxiolitikum, mind a – talán – anxiolitikus hatással bíró antidepresszáns normalizál.

Az ivási telítődés által kiváltott diszkomfort vizsgálata krónikus enyhe stressz után

A kísérlet menete

Vizsgálatok a negyedik kísérletben:

- teszteltük, hogy a patkányok tesznek-e különbséget az „A” és a „B” ízű víz között (15 hím Wistar patkány, 240-260 g, *ízpreferencia vizsgálat*),
- felvettük a patkányok *ivási görbáját*, hogy eldönthessük, meddig tart az intenzív ivási szakasz, mivel a palackokat ez után a szakasz után kellett kicserélni az asszociáció során (10 darab, 250-260 g-os hím Wistar patkány adatait használtuk),
- a *krónikus enyhe stresszt* ezúttal 5 hétig folytattuk. A stressz 16. napjától kezdve alakítottuk ki az asszociációt,
- a CMS kezdete előtt és befejezése után *cukortesztet*,
- a CMS befejezése után *ítatási tesztet* végeztünk.

A korábbiakban alkalmazott CMS protokollt használtuk most is, a kísérlet követelte módosításokkal. Be kellett iktatnunk a napi asszociációs ülést és az asszociációhoz szükséges szomjazzatást. A második cukortesztet az itatási tesztek után végeztük. A csoportokat (CMS – kontroll) az alappreferencia alapján alakítottuk ki úgy, hogy a két csoport ne különbözzön. Mindkét csoportba 12 állat került.

Eredmények

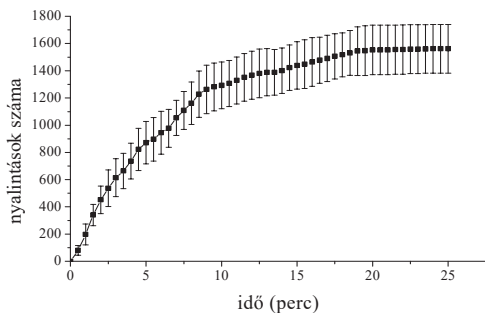
Ízpreferencia vizsgálata

Nem találtunk eltérést a két folyadék között („A” íz: $8,9 \pm 1,44$ g, „B” íz: $9,42 \pm 1,27$ g, 15 állat 7 napos átlaga: $t=1,01$; $p=0,32$).

Az ivási görbe felvétele

A tíz patkány két napjának adatait átlagoltuk, majd ennek alapján felrajzoltunk egy átlagos ivási görbét. A görbéről azt olvashatjuk le, hogy kb. a tizedik perctől kezdve az ivás már nem

olyan intenzív, mint előtte, de még megbízhatóan folytatódik. A palackcsere időpontjának ezért a 10-11. percet választottuk (16. ábra). Az asszociáció során az állatok a palackcsere előtt az „A”, utána a „B” ízt kapták.

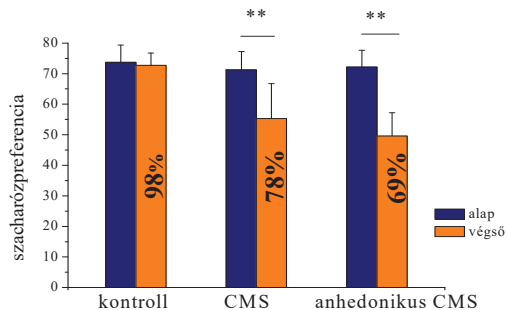


16. ábra. A palackcsere időpontjának kiválasztásához felvett átlagos ivási görbe.

Cukorteszt

A kétszempontos (stressz, teszt) ANOVA és az azt követő Fisher LSD-teszt igazolja, hogy a kontroll és a CMS csoport preferenciája között nem volt különbség a CMS-t megelőzően ($SP_{\text{kontroll}}=73,74$, $SP_{\text{CMS}}=71,28$; $p=0,42$), míg a CMS-t követően a CMS csoport preferenciája szignifikánsan alacsonyabb volt: $SP_{\text{kontroll}}=72,73$, $SP_{\text{CMS}}=55,34$; $p<0,01$.

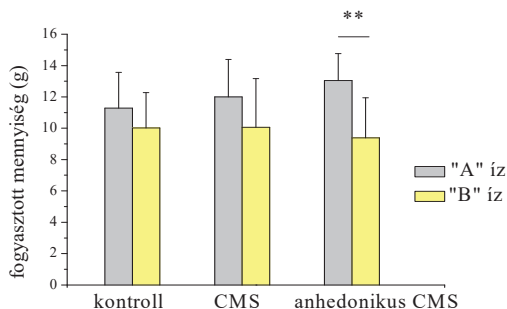
A kontroll csoportban az állatok preferenciája a második mérés szerint sem csökkent az alap 80%-a alá, míg a CMS csoportban a 12 állatból 8 preferenciája ez alá az érték alá került. A továbbiakban ezt a nyolc állatot tekintettük anhedonikusnak a CMS csoporton belül (17. ábra).



17. ábra. A cukorpreferencia változása a CMS után. ** $p < 0.01$. $N(\text{kontroll})=12$, $n(\text{CMS})=12$, $n(\text{anhedonikus})=8$. Kétszemponos (stressz, teszt) ANOVA és Fisher LSD-teszt.

Az asszociáció vizsgálata

Kétpalackos teszt. Az ANOVA nem mutat különbséget a kontroll és a CMS csoport által ivott mennyiségek között: sem a csoport, sem az íz, sem a kettő interakciója nem szignifikáns. A kontroll és az anhedonikus csoport összehasonlításakor az ANOVA szignifikáns különbséget mutat (csoport*íz): $F(1,36)=5,74$; $p=0,02$. Az anhedonikus csoport kevesebbet ivott a „B” ízből, mint az „A” ízből (Fisher LSD-teszt, $p < 0,01$; 18. ábra).

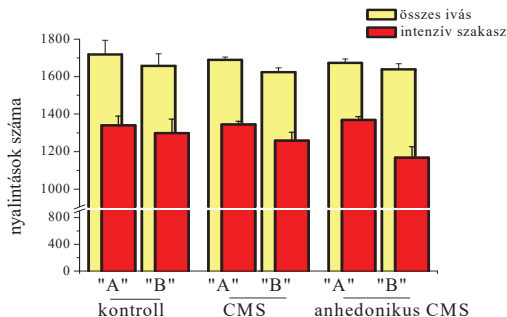


18. ábra. A kétpalackos teszt eredménye a kontroll, CMS és anhedonikus CMS csoportban. $N(\text{kontroll})=12$, $n(\text{CMS})=12$, $n(\text{anhedonikus})=8$. Kétszemponos (csoport, íz) ANOVA és Fisher LSD-teszt. ** $p < 0,01$.

Egypalackos teszt. Az ANOVA nem mutat szignifikáns különbséget kontroll és CMS csoportok összehasonlításakor sem a 11. percben, sem a mérés teljes időtartamát vizsgálva (17. táblázat). Akkor sem mutatható ki statisztikai különbség, ha a kontrollt az anhedonikus csoporttal hasonlítjuk össze (17. táblázat), bár az „íz” faktor eléri a trend szintjét. A 16. ábrán látható, hogy az anhedonikus alcsoport valamivel kevesebbet ivott a „B” tesztenapon az intenzív szakaszban, míg az összes megivott mennyiség nem különbözött.

17. táblázat. Az egypalackos teszt statisztikai mutatói. Kétszemponos (stressz, íz) ANOVA.

<i>kontroll - CMS</i>	F(1,44)	p
11. perc		
stressz	0,12	0,73
íz	1,62	0,21
stressz*íz	0,20	0,66
25. perc		
stressz	0,35	0,56
íz	1,49	0,23
stressz*íz	0,01	0,97
<i>kontroll - anhedonikus</i>		
11. perc		
stressz	0,71	0,41
íz	3,99	0,53
stressz*íz	1,71	0,20
25. perc		
stressz	0,25	0,62
íz	0,57	0,45
stressz*íz	0,05	0,83



16. ábra. Az egypalackos teszt eredménye. N(kontroll)=12, n(CMS)=12, n(anhedonikus)=8.

Megvitatás

Ennek a kísérletnek a tervezésekor feltételeztük, hogy a krónikus enyhe stressz hatására depressziószerű jeleket, illetve anhedóniát mutató állatainkon ki tudunk mutatni egy olyan jelenséget, amit korábban csak egyesével, ingerszegény környezetben tartott, vagyis erős pszichoszociális stressznek kitett állatokon sikerült. Ez a jelenség a telítődés által kiváltott diszkomfort érzetének társítása egy korábban semleges ízzel (Bárdos és mtsai 2002). A semleges íz az asszociáció következtében veszít hedonikus értékéből, negatív alliesztézia alakul ki (Cabanac 1971, Boulze és mtsai 1983).

A jelenség kimutatását kétféle itatási teszttel, az egypalackos és a kétpalackos módszerrel is megpróbáltuk. Miután elegendő időt (20 nap) biztosítottunk az állatoknak ahhoz, hogy az asszociáció kialakuljon, egyik módszerrel sem tudtunk különbséget kimutatni a kontroll és a CMS csoport folyadékfogyasztása között, vagyis az asszociáció egyik csoportban sem alakult ki.

A krónikus enyhe stresszt követő cukorpreferencia teszt egyedi adatait vizsgálva azt láttuk, hogy a kontroll állatok értékei szinte egyáltalán nem különböztek az alap teszt során mért értékeiktől (a 12 állatból egynek sem csökkent az alap 80%-a alá a preferenciája), míg a CMS csoportban a csökkenés nagyobb egyedi variabilitást mutatott: 12 állatból 8-nak az alap 80%-a alá csökkent a preferenciája. Ennek a nyolc állatnak az értékei 49,4% és 77,9% közé estek, míg a maradék 4 állat 90% és 105% közé. Kiszámoltuk a teszt beállítása során mért krónikus

enyhe stressz utáni preferenciák alappreferencia százalékában kifejezett értékeit, és azt tapasztaltuk, hogy a kontroll állatok esetében ez az érték soha nem csökkent 80% alá, ezért csak azt a nyolc patkányt minősítettük anhedonikusnak ebben a kísérletben, amelyek értékei a 80%-os határ alá estek.

A továbbiakban a kontroll és az anhedonikus állatok ivási adatait vetettük össze. A kétpalackos tesztben ekkor szignifikáns különbséget láttunk a folyadékok között: az anhedonikus állatok kevésbé kedvelték a „B” ízt, mint az „A”-t. Az eredmények alapján valószínűnek tartom, hogy a „B” íz azért veszített hedonikus értékéből, mert az anhedonikus állatokban kialakult az asszociáció.

Az egypalackos tesztben nem mértünk szignifikáns csökkenést a „B” ízre egyik csoportban sem, bár az anhedonikus állatok valamivel kevesebbet ittak ebből a folyadékból az intenzív szakaszban, mint a többi csoport. A mérés teljes idejében mért folyadékfelvétel nem különbözött, ami azt jelenti, hogy nem kevésbé voltak szomjasak, hanem az ivás mintázata változott meg. Korábbi tapasztalataink (Bárdos és mtsai 2002) is azt mutatják, hogy ha egy folyadék hedonikus értéke csökken, de nem olyan mértékben, hogy averzívvé váljon, akkor az állatok ugyanannyit (vagy nem sokkal kevesebbet) isznak belőle, mint egy semleges ízből, az ivási viselkedés azonban szaggatottá válik, ezzel magyarázható, hogy az intenzív szakaszban kisebb fogyasztást mérünk. A kísérlet viszonylagos sikertelensége nem meglepő, hiszen sem a krónikus enyhe stressz által kiváltott, sem az ivási viselkedésben megfigyelhető változások nem tartoznak a könnyen modellezhető hatások közé (gyenge hatások).

A kísérlet tervezésekor megfogalmazott hipotézisünket – miszerint a krónikus enyhe stressz által anhedonikussá vált állatoknál megfigyelhető olyan negatív alliesztézia kialakulása, amelyet korábban ingerszegény környezetben, izolált állatoknál figyeltünk meg és ezt a jelenséget a normál körülmények között tartott állatoknál nem figyelhetjük meg – részben sikerült alátámasztanunk. További vizsgálatok segítségével talán kifejleszthető lenne egy olyan állatkísérletes technika, amelynek segítségével a depressziót vagy még inkább a depresszív hangulatot kísérő nonspecifikus tüneteket modellezhetjük.

Az eredmények összefoglalása

- A szakirodalomban elfogadott módszerrel validáltuk az általunk módosított krónikus enyhe stressz eljárást. Bizonyítottuk, hogy a módszer eredményes akkor is, ha nem alkalmazunk éheztetést és szomjazzatást, a stresszorok pedig változatosabbak, mint az eredeti protokollban.
- Megfigyeltük, hogy a cukorpreferencia alkalmasabb mérőszáma lehet a hedonikus értékelés változásának, mint az abszolút cukorfogyasztás.
- Megállapítottuk, hogy módszerünk már egy hét után is a hedonikus érték csökkenését eredményezte, de a stabil hatás érdekében a három hetes stresszelést tartjuk optimálisnak.
- A krónikus enyhe stressz hatását különböző, a farmakológiában használatos tesztekkel vizsgáltuk. Elsőként állapítottuk meg, hogy a hedonikus értékelés változása pozitív korrelációt mutat a szociális elkerülés tesztben megfigyelhető változással. Ennek alapján azt gondoljuk, hogy a szociális elkerülés depressziószerű tünet lehet patkányban, legalábbis a krónikus enyhe stresszt követően. Ez a feltételezés összhangban van a humán betegségben megfigyelhető összefüggésekkel.
- Megállapítottuk, hogy az egyedek szintjén nincs szoros összefüggés a hedonikus értékelés változása és az emelt keresztlabirintuson, a Porsolt tesztben, valamint a grooming tesztben mért viselkedés között. Ugyanakkor a krónikus enyhe stressz különböző irányban befolyásolta az ezekben a tesztekben mutatott viselkedést.
- A krónikus enyhe stressz hatása időtartamát tekintve is eltérő a vizsgált tesztekben: a szociális interakció tesztben még 21 nappal a stressz befejezése után is mérhető, a grooming tesztben már normalizálódik a viselkedés, míg az emelt keresztlabirintus és a Porsolt tesztekben a nagyobb egyedi különbségek miatt az időbeli lefutás nem vizsgálható biztonsággal.
- A fenti eredmények alapján a szociális elkerülés teszt és a grooming teszt megbízhatóbban méri a krónikus enyhe stressz viselkedési kimeneteit, mint az emelt keresztlabirintus vagy a Porsolt teszt.
- A krónikus enyhe stressz után szociális elkerülés tesztben és Porsolt tesztben valószínűleg vizsgálhatóak antidepresszáns hatású anyagok, míg a többi viselkedésteszt erre kevésbé tűnik alkalmasnak. Természetesen ennek eldöntéséhez további vizsgálatok szükségesek.

- Az itatásos kísérletekben megfigyeltük, hogy az anhedonikussá váló állatok hasonló viselkedést mutattak, mint az izoláltan, ingerszegény környezetben tartott állatok. Ezt a jelenséget értékelhetjük a szociális deficit és a depresszió összefüggésének újabb jeleként.
- Az itatásos kísérletek eredménye szerint az anhedonikussá váló állatok érzettársítása megváltozott. Ennek alapján elképzelhetőnek tartjuk, hogy a későbbiekben kifejleszthető lesz egy olyan állatkísérletes modell, amellyel a depressziót, depresszív hangulatot kísérő nonspecifikus tüneteket is vizsgálni lehet.

Magyar nyelvű összefoglaló

Munkánk célja az volt, hogy megvizsgáljuk a krónikus enyhe stressz modell viselkedéssztereotípiákkal mérhető hatásait.

A modell konstruktív validitásának javítása érdekében módosítottuk és validáltuk a stresszelési eljárást a szakirodalomban elfogadott elvek alapján. A CMS állatok abszolút cukorfogyasztása és cukorpreferenciája ugyanúgy csökkent, mint az eredeti módszer hatására, vagyis a mi eljárásunk is alkalmas anhedónia kiváltására. A cukorpreferencia csökkenését az állatok tömegének kisebb növekedése is kísérte. A validálás során megállapítottuk, hogy a krónikus enyhe stressz már egy hét után is eredményes, de a stabil hatás érdekében a háromhetes stresszelést tartjuk optimálisnak.

Egy következő kísérlet sorozatban megállapítottuk, hogy a krónikus enyhe stressz anxiolitikus-szerű hatást eredményez az emelt keresztlabirintus tesztben, ezt azonban nem a szorongási szint csökkenésével, hanem a megváltozott emocionális feldolgozással magyaráztuk. A Porsolt tesztben az aktivitás csökkenését, vagyis depressziószerű állapotra utaló jelet, a szociális elkerülés tesztben a szociális viselkedés csökkenését, a grooming vizsgálat során pedig az önápoló viselkedés szorongásszerű megváltozását mértük. A felsorolt viselkedésváltozások közül a szociális elkerülés tesztben mért viselkedés és a hedonikus értékelés között pozitív korrelációt találtunk.

Vizsgáltuk azt is, hogy mennyire tartós a viselkedés megváltozása az említett tesztekben. A szociális elkerülés tesztben mértük a leghosszabb hatást: még 21 nap elteltével is visszahúzódóbbak voltak a CMS állatok, mint a kontrollok. A grooming tesztben mért változás a stresszt követő 10. napon még mérhető volt, míg a 21. napra normalizálódott a viselkedés. Az emelt keresztlabirintus és a Porsolt teszt kevésbé tűnik alkalmasnak a CMS hosszútávú hatásainak vizsgálatára, valószínűleg a tesztekben megjelenő nagyobb egyedi különbségek miatt.

Krónikus fluoxetin kezelés hatása leginkább a szociális elkerülés és a Porsolt tesztben volt jól mérhető. A szociális elkerülés és a grooming tesztben a szorongásoldó diazepam is hatékonyan bizonyult.

Az itatásos kísérletekben kimutattuk, hogy a CMS állatok közül azoknak az állatoknak, amelyek anhedóniát mutattak, megváltozott a zsigeri érzettársításuk is. Eredményeink közül különösen érdekesnek tartom azokat, amelyek a depresszió és a szociális deficit összefüggéseire világítanak rá.

Summary

The aim of this study was to examine the behavior of rats in various behavioral tests after exposure to chronic mild stress.

In order to enhance the construct validity of the model we introduced a few modifications. The modified procedure was validated by measuring sucrose intake and preference. CMS applied in our experiments resulted in a similar decrease of sugar intake and preference as described in the original method, demonstrating that this intervention could induce anhedonia, too. Furthermore, rats reduced their consumption of the sucrose solution parallel with a slower rate of body weight gain.

In the course of the validation of the modified protocol a significant effect of CMS after one week was observed, but a 3-week stress period is considered optimal.

In a second series of experiments CMS resulted in a low-anxiety profile in the elevated plus-maze test, reduced activity in the Porsolt test, induced social withdrawal in the social avoidance test and led to an anxiety-like behavior in the grooming test. There was a positive statistically significant correlation between sucrose intake and the avoidance behavior observed in the social avoidance test but not between sucrose intake and other measures.

The time-course of behavioral changes measured in the above mentioned tests was also examined. The effect of CMS was long-lasting in the social avoidance test, where we could detect a difference between CMS and control animals even after 21 days of rehabilitation from stress. A difference was measured after 10 but not 21 days in the grooming test. EPM and Porsolt tests seemed to be less relevant for the examination of the time-course of the effects of CMS, due to the greater variability observed in these models.

Chronic fluoxetine treatment had an antidepressant effect in the CMS-treated group in the social avoidance and the Porsolt tests. Diazepam was also effective in the social avoidance and the grooming tests, demonstrating the anxiety-generating character of the CMS-procedure.

A shift in the visceral sensation was observable in the anhedonic subgroup of the CMS-treated animals. This phenomenon was very similar to our earlier findings in single-housed (social stress) animals.

The most interesting findings of this study show a clear link between depression and social deficits.

Függelék

1. táblázat. A korrelációvizsgálathoz elvégzett kísérletek adatai

teszt/változó	kontroll átlag±SE (n=15)	CMS átlag±SE (n=15)
<i>cukorteszt</i>		
cukorfogyasztás (g)	11,6±0,6	9,9±0,5
cukorpreferencia	82,1±1,8	70,7±1,9
<i>emelt keresztlabirintus</i>		
nyílt idő (sec)	62,1±7,8	81,7±4,2
nyílt belépések száma	12,5±1,0	15,27±1,6
zárt belépések száma	10,1±0,7	10,0±0,7
<i>Porsolt teszt</i>		
immobil idő (sec)	93,5±5,1	108,9±4,8
<i>szociális elkerülés teszt</i>		
társ-idő (sec)	184,5±9,2	151,50±11,9
társ-belépések száma	7,3±0,5	5,7±0,4
<i>grooming teszt</i>		
latencia (sec)	335,7±25,5	268,8±19,6
összidő(sec)	124,3±7,2	160,5±15,5

2. táblázat. A korrelációanalízis eredménye

	csoport	NYI	NYB	ZB	IMM	TIDŐ	TB	GRLAT	GRI	C
csoport	1,0	0,39*	0,27	-,03	0,38*	-0,38*	-0,42*	-0,37*	0,37*	-0,37*
nyílt karban töltött idő (emelt keresztlabirintus)		1,0	0,35 ⁺	0,170	0,250	0,05	0,04	-0,18	0,27	0,06
nyílt belépések száma (emelt keresztlabirintus)			1,0	0,08	0,13	-0,09	-0,07	-0,32 ⁺	-0,01	0,09
zárt belépések száma (emelt keresztlabirintus)				1,0	0,10	-0,22	0,15	0,47**	-0,01	-0,03
immobil idő (Porsolt teszt)					1,0	-0,03	-0,05	-0,01	0,49**	-0,21
társ-térfelel töltött idő (szociális elkerülés teszt)						1,0	0,37*	0,34 ⁺	0,15	0,38*
társ-belépések száma (szociális elkerülés teszt)							1,0	0,51**	-0,05	0,37*
latencia (grooming teszt)								1,0	-0,04	0,24
összidő (grooming teszt)									1,0	0,06
cukorfogyasztás										1,0

*: $p < 0,05$, **: $p < 0,01$, ⁺: $0,05 < p < 0,1$

NYI: nyílt karban töltött idő; NYB: nyílt belépések száma, ZB: zárt belépések száma; IMM: immobil idő; TIDŐ: társ-térfelel töltött idő;
TB: társ-belépések száma; GRLAT: a grooming latenciája; GRI: a grooming összideje; C: cukorfogyasztás

A táblázatból látható, hogy nemcsak a cukorfogyasztás és az egyéb viselkedéselemek között fedezhető fel összefüggés, hanem a különböző viselkedéselemek között is. Ezek elemzése meghaladná a jelen dolgozat kereteit, viszont fontos feladat nem csupán a CMS, de a viselkedéstechnikák jobb megértése szempontjából is.

3. táblázat. Az időbeli lefutás vizsgálatához végzett kísérletek adatai

teszt, változó/mérési pont	kontroll átlag±SE	CMS átlag±SE
emelt keresztlabirintus		
<i>nyílt karban töltött idő (sec)</i>		
1. hét	44,4±6,7	71,2±5,9
2. hét	63,6±13,0	92,7±17,5
3. hét	61,7±12,6	69,1±12,4
<i>nyílt belépések száma</i>		
1. hét	3,7±0,6	6,5±0,3
2. hét	2,7±0,5	5,2±1,0
3. hét	5,3±1,5	4±0,5
<i>zárt belépések száma</i>		
1. hét	7,0±0,6	8,3±0,4
2. hét	8,0±0,4	8,2±0,5
3. hét	8,9±0,5	8,4±0,6
Porsolt teszt		
<i>immobil idő (sec)</i>		
1. hét	96,9±5,1	119,4±8,4
2. hét	104,2±14,1	117,5±12,9
3. hét	115,9±14,8	142,0±9,2
szociális elkerülés teszt		
<i>társ-idő (sec)</i>		
1. hét	177,7±8,9	140,1±10,1
2. hét	179,3±7,9	151,0±7,9
3. hét	162,2±12,8	124,1±12,6
<i>társ-belépések száma</i>		
1. hét	6,5±0,4	5,2±0,5
2. hét	7,4±0,6	5,3±0,4
3. hét	7,9±0,6	7,7±0,6
grooming teszt		
<i>latencia (sec)</i>		
1. hét	341,5±63,7	201,4±26,0
2. hét	350,6±51,7	244,3±48,2
3. hét	291,7±40,0	229,9±30,6
<i>összidő (sec)</i>		
1. hét	116,6±18,8	194,0±19,6
2. hét	104,7±12,7	162,5±14,4
3. hét	106,9±10,9	110,5±12,9

4. táblázat. Antidepresszáns és szorongásoldó kezelés vizsgálatához végzett kísérletek adatai

teszt, változó/drog	kontroll átlag±SE	CMS átlag±SE
emelt keresztlabirintus		
<i>nyílt karban töltött idő (sec)</i>		
MC	41,0±8,3	72,3±9,2
fluoxetin	41,8±10,6	49,6±9,2
diazepam	80,4±12,5	71,8±14,9
<i>nyílt belépések száma</i>		
MC	3,2±0,5	4,4±0,8
fluoxetin	3,3±0,8	3,8±0,7
diazepam	4,5±0,7	5,2±0,9
<i>zárt belépések száma</i>		
MC	7,3±0,6	6,8±0,9
fluoxetin	9,6±0,8	10,7±0,8
diazepam	6,6±0,5	7,9±0,5
Porsolt teszt		
<i>immobil idő (sec)</i>		
MC	80,9±8,4	117,7±7,1
fluoxetin	63,4±3,6	88,7±8,7
diazepam	69,7±5,5	98,5±7,7
szociális elkerülés teszt		
<i>társ-idő (sec)</i>		
MC	174,4±9,3	142,8±10,6
fluoxetin	162,9±14,4	180,4±6,4
diazepam	199,5±6,8	157,6±11,2
<i>társ-belépések száma</i>		
MC	6,3±0,4	4,4±0,6
fluoxetin	6,5±0,8	7,2±0,5
diazepam	8,2±0,7	6,4±0,6
grooming teszt		
<i>latencia (sec)</i>		
MC	370,8±33,7	229,5±26,2
fluoxetin	389,9±51,6	422,7±30,7
diazepam	473,0±43,0	407,7±23,0
<i>összidő (sec)</i>		
MC	89,2±21,1	195,6±24,9
fluoxetin	180,1±29,1	134,6±17,0
diazepam	60,0±12,9	107,4±8,8

Irodalomjegyzék

- Ahokas A, Kaukoranta J, Wahlbeck K, Aito M
Estrogen deficiency in severe postpartum depression: successful treatment with sublingual
physiologic 17beta-estradiol: a preliminary study
J Clin Psychiatry 62(5): 332-6, 2001
- Alt A, Witkin JM, Bleakman D
AMPA receptor potentiators as novel antidepressants
Curr Pharm Des 11, 1511–1527 (2005)
- Anand A, Charney DS
Norepinephrine dysfunction in depression
J Clin Psychiatry 61(suppl 10):16-24 (2000)
- Anisman H, Zacharko RM
Stimulus change influences escape performance: deficits induced by uncontrollable stress and
by haloperidol
Pharmacol Biochem Behav 17(2): 263-9 (1982)
- Anisman H, Merali Z
Chronic stressors and depression: distinguishing characteristics and individual profiles
Psychopharmacology 134:330-332 (1997)
- Ayensu WK, Pucilowski O, Mason GA, Overstreet DH, Rezvani AH, Janiowsky DS
Effects of chronic mild stress on serum complement activity, saccharin preference, and
corticosterone levels in Flinders lines of rats
Physiol Behav 57:165-169 (1995)
- Bagdy G, Graf M, Anheuer ZE, Modos EA, Kantor S
Anxiety-like effects induced by acute fluoxetine, sertraline or m-CPP treatment are reversed
by pretreatment with the 5-HT_{2C} receptor antagonist SB-242084 but not the 5-HT_{1A} receptor
antagonist WAY-100635
Int J Neuropsychopharmacol 4(4): 399-408 (2001)
- Baker SL, Kentner AC, Konkole AT, Santa-Maria-Barbagallo L, Bielajew C
Behavioral and physiological effects of chronic mild stress in female rats
Physiol Behav 87(2): 314-22 (2006)
- Baker S, Bielajew C
Influence of housing on the consequences of chronic mild stress in female rats
Stress 10(3):283-93 (2007)
- Ballenger JC
Clinical guidelines for establishing remission in patients with depression and anxiety
J Clin Psychiatry 60 (suppl 22):29-34 (1999)
- Bárdos G, Gyetvai B, Móricz K, Haraszti H
Discomfort: Not pain but still unpleasant feelings from the gut.
Acta Biol Acad Sci Hung 53: 423-433 (2002)

- Bárdos Gy
Akadémiai doktori értekezés (2008)
- Bekris S, Antoniou K, Daskas S, Papadopoulou-Daifoti Z
Behavioural and neurochemical effects induced by chronic mild stress applied to two different rat strains
Behav Brain Res 161: 45-59 (2005)
- Benelli A, Filaferro M, Bertonili A, Genedani S
Influence of S-adenosyl- *L* -carnitine on chronic mild stress-induced anhedonia in castrated rats
Br J Pharmacol 127: 645–654 (1999)
- Benkelfat C, Ellenbogen MA, Dean P, Palmour RM, Young SN
Mood-lowering effect of tryptophan depletion. Enhanced susceptibility in young men at genetic risk for major affective disorders.
Arch Gen Psychiatry 51(9): 687-97 (1994)
- Berridge KC
Comparative fine structure of action:rules of form and sequence in the grooming patterns of six rodent species
Behavior 113:21-56 (1990)
- Berridge KC, Aldridge JW
Super-stereotypy I: enhancement of a complex movement sequence by systemic dopamine D1 agonists
Synapse 37:194–204 (2000a)
- Berridge KC, Aldridge JW
Super-stereotypy II: enhancement of a complex movement sequence by intraventricular dopamine D1 agonists
Synapse 37:205–15 (2000b)
- Berton O, Nestler EJ
New approaches to antidepressant drug discovery: beyond monoamines
Nature Rev 7:137-151 (2006)
- Bielajew C, Konkle ATM, Mentne AC, Baker SL, Stewart A, Hutchins AA, Santa-Maria Barbagallo L, Fouriez G
Strain and gender specific effects in the forced swim tests: effects of previous stress exposure
Stress 6:269–280 (2003)
- Bissette G, Klimek V, Pan J, Stockmeier C, Ordway G
Elevated concentrations of CRF in the locus coeruleus of depressed subjects
Neuropsychopharmacology 28:1328–1335 (2003)
- Blass EM, Hall WG
Behavioral and physiological bases of drinking inhibition in water deprived rats
Nature 249:485-486 (1974)

Blier P, Ward NM

Is there a role for 5-HT1A agonists in the treatment of depression?

Biol Psychiatry 53(3): 193-203 (2003)

Blier P, Gobbi G, Haddjeri N, Santarelli L, Matthew G, Hen R

Impact of substance P receptor antagonism on the serotonin and norepinephrine systems: relevance to the antidepressant/anxiolytic response

J Psychiatry Neurosci 29, 208–218 (2004)

BNO-10 zsebkönyv, az Animula Egyesület kiadványa, Budapest (2002)

Borsini F, Evangelista S, Meli A

Effect of GABAergic drugs in the behavioral ‘despair’ test in rats

Eur J Pharmacol 121:265–8 (1986)

Boulze D, Montastruc P, Cabanac M

Water intake, pleasure and water temperature in humans

Physiol Behav 30:97-102 (1983)

Brotto LA, Barr AM, Gorzalka BB

Sex differences in forced-swim and open-field test behaviours after chronic administration of melatonin

Eur J Pharmacol 402(1-2): 87-93 (2000)

Brotto LA, Gorzalka BB, LaMarre AK

Melatonin protects against the effects of chronic stress on sexual behaviour in male rats

Neuroreport 12: 3465–3469 (2001)

Brown GW

Life events and affective disorder: replications and limitations

Psychosom Med 55(3): 248-59 (1993)

Bunney WE Jr, Davis JM

Norepinephrine in depressive reactions. A review

Arch Gen Psychiatry 13(6): 483-94 (1965)

Cabanac M

Physiological role of pleasure

Science 173:1103-1107 (1971)

Carpenter LL, Anderson GM, Pelton GH, Gudin JA, Kirwin PD, Price, LH, Heninger GR, McDougale CJ

Tryptophan depletion during continuous CSF sampling in healthy human subjects

Neuropsychopharmacology 19(1): 26-35 (1998)

Charney DS

Psychobiological mechanisms of resilience and vulnerability: implications for successful adaptation to extreme stress

Am J Psychiatry 161,195–216 (2004)

- Cheeta S, Broekkamp C, Willner P
Stereospecific reversal of stress-induced anhedonia by mianserin and its (+)-enantiomer
Psychopharmacol 116:523-528 (1994)
- Cheeta S, Ruigt G, van Proosdij J, Willner P
Changes in sleep architecture following chronic mild stress
Biol Psychiatry 41:419-427 (1997)
- Cheeta S, Tucci S, Sandhu J, Williams AR, Rupniak NM, File SE
Anxiolytic actions of the substance P (NK1) receptor antagonist L-760735 and the 5-HT1A agonist 8-OH-DPAT in the social interaction test in gerbils
Brain Res 12 915(2): 170-5 (2001)
- Chen B, Dowlatshahi D, MacQueen GM, Wang JF, Young LT
Increased hippocampal BDNF immunoreactivity in subjects treated with antidepressant medication
Biol Psychiatry 50, 260-265 (2001)
- Chiara G, Loddo P, Tanda G
Reciprocal changes in prefrontal and limbic dopamine responsiveness to aversive and rewarding stimuli after chronic mild stress: Implications for the psychobiology of depression
Biol Psychiatry 46:1624-1633 (1999)
- Crawley JN, Belknap JK, Collins A, Crabbe JC, Frankel W, Henderson N, Hitzemann RJ, Maxson SC, Miner LL, Silva AJ, Wehner JM, Wynshaw-Boris A, Paylor R
Behavioral phenotypes of inbred mouse strains: implications and recommendations for molecular studies
Psychopharmacology 132:107-124 (1997)
- Cruz APM, Frei F, Graeff FG
Ethopharmacological analysis of rat behavior on the elevated plus-maze
Pharmacol Biochem Behav 49:171-179 (1994)
- Cryan JF, Mombereau C, Vassout A
The tail suspension test as a model for assessing antidepressant activity: Review of pharmacological and genetic studies in mice
Neurosci and Biobehav Rev 29 571-625 (2005)
- Cuadra G, Zurita A, Gioino G, Molina V
Influence of different antidepressant drugs on the effect of chronic variable stress on restraint-induced dopamine release in frontal cortex
Neuropsychopharmacol 25(3): 384-94 (2001)
- Dalla C, Antoniou K, Drossopoulou G, Xagoraris M, Kokras N, Sfikakis A, Papadopoulou-Daifoti Z
Chronic mild stress impact: are females more vulnerable?
Neuroscience 135(3): 703-14 (2005)

- D'Aquila P, Brain PF, Willner P
Effects of chronic mild stress on performance in behavioural tests relevant to anxiety and depression
Physiol Behav 56: 861–867 (1994)
- D'Aquila P, Newton J, Willner P
Diurnal variation in the effect of chronic mild stress on sucrose intake and preference
Physiol Behav 62:421-426 (1997a)
- D'Aquila P, Monleon S, Borsini F, Brain P, Willner P
Anti-anhedonic actions of the novel serotonergic agent flibanserin, a potential rapidly-acting antidepressant
Eur J Pharmacol 340: 121–132 (1997b)
- D'Aquila PS, Peana AT, Carboni V, Serra G
Exploratory behaviour and grooming after repeated restraint and chronic mild stress: effect of desipramine
Eur J Pharmacol 399:43–47 (2000)
- Datti F, Datti M, Antunes E, Teixeira NA
Influence of chronic unpredictable stress on the allergic responses in rats.
Physiol Behav 77: 79–83 (2002)
- Dauge V, Bertrand E, Smadja C, Fournie-Zaluska MC, Roques BP
Analysis of extracellular levels of met-enkephaline in the nucleus accumbens of rats submitted to a chronic unpredictable mild stress regimen
Behav Pharmacol 7:24 (1996)
- de Kloet ER, Joels M, Holsboer F
Stress and the brain: from adaptation to disease
Nature Rev Neurosci 6, 463–475 (2005)
- Delgado PL
Depression: the case for a monoamine deficiency
J Clin Psychiatry 61 (suppl 6): 7-11 (2000)
- Detke MJ, Johnson J, Lucki I
Acute, chronic antidepressant drug treatment in the rat forced swimming test model of depression
Exp Clin Psychopharmacol 5:107-112 (1997)
- Drapier D, Bentue-Ferrer D, Laviolle B, Millet B, Allain H, Bourin M, Reymann JM
Effects of acute fluoxetine, paroxetine and desipramine on rats tested on the elevated plus-maze
Behav Brain Res 176(2): 202-9 (2007)
- Drevets WC
Neuroimaging and neuropathological studies of depression: implications for the cognitive-emotional features of mood disorders
Curr Opin Neurobiol 11:240-249 (2001)

- Ducottet C, Griebel G, Belzung C
Effects of the selective nonpeptide corticotropin-releasing factor receptor 1 antagonist antalarmin in the chronic mild stress model of depression in mice
Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry 27: 625-631 (2003)
- Dulawa SC, Holick KA, Gundersen B, Hen R
Effects of chronic fluoxetine in animal models of anxiety and depression
Neuropsychopharmacol 29(7): 1321-31 (2004)
- Duman RS, Heninger GR, Nestler EJ
Molecular psychiatry. Adaptations of receptor-coupled signal transduction pathways underlying stress- and drug-induced neural plasticity.
J Nerv Ment Dis 182(12): 692-700 (1994)
- Duman RS, Heninger GR, Nestler EJ
A molecular and cellular hypothesis of depression
Arch Gen Psychiatry 54, 597–606 (1997)
- Duman RS, Malberg J, Nakagawa S, D'Sa C
Neuronal plasticity and survival in mood disorders
Biol Psychiatry 48(8): 732-9 (2000)
- Duman RS
Role of neurotrophic factors in the etiology and treatment of mood disorders
Neuromolecular Med 5, 11–25 (2004)
- Duncko R, Kiss A, Skultetyova I, Rusnak M, Jezova D
Corticotropin-releasing hormone mRNA levels in response to chronic mild stress rise in male but not in female rats while tyrosine hydroxylase mRNA levels decrease in both sexes
Psychoneuroendocrinology 26(1): 77-89 (2001)
- Dunn AJ, Berridge CW, Lai YI, Yachabach TL
CRF-induced excessive grooming behavior in rats and mice
Peptides 8:841–4 (1987)
- Edgar VA, Cremaschi GA, Sterin-Borda L, Genaro AM
Altered expression of autonomic neurotransmitter receptors and proliferative responses in lymphocytes from a chronic mild stress model of depression: effects of fluoxetine
Brain Behav Immun 16:333–350 (2002)
- Eisch AJ
BDNF in the ventral midbrain–nucleus accumbens pathway: a role in depression
Biol Psychiatry 54, 994–1005 (2003)
- Ellenbroek BA, Cools AR
Animal models for the negative symptoms of schizophrenia
Behav Pharmacol 11:223-233 (2000)

- Elliott PJ
Place aversion induced by the substance P analogue, dimethyl -C7, is not state dependent: implication of substance P in aversion
Exp Brain Res 73:354-356 (1988)
- Fawcett J, Clark DC, Scheftner WA, Gibbons RD
Assessing anhedonia in psychiatric patients. The pleasure scale
Arch Gen Psychiatry 40:79-84 (1983)
- Fentress JC
The tonic hypothesis and the patterning of behaviour
Ann NY Acad Sci 290:370-94 (1977)
- Flores HF
Clinical and biological effects of mifepristone treatment for psychotic depression.
Neuropharmacology 14 Sep (2005)
- Forbes NF, Stewart CA, Matthews K, Reid IC
Chronic mild stress and sucrose consumption: validity as a model of depression
Physiol Behav 60:1481-1484 (1996)
- Fowels DC
Schizophrenia: diathesis-stress revised
Annu Rev Psychol 43:303-336 (1992)
- Fujisaki C, Utsuyama M, Kuroda Y, Watanabe A, Seidler H, Watanabe S, Kitagawa M, Hirokawa K
An immunosuppressive drug, cyclosporine-A acts like anti-depressant for rats under unpredictable chronic stress
J Med Dent Sci 50: 93-100 (2002)
- Gambarana C, Ghiglieri O, Tolu P, De Montis MG, Giachetti D, Bombardelli E, Tagliamonte A
Efficacy of an *Hypericum perforatum* (St. John's wort) extract in preventing and reverting a condition of escape deficit in rats
Neuropsychopharmacology 21:247-257 (1999)
- Gambarana C, Scheggi S, Tagliamonte A, Tolu P, De Montis MG
Animal models for the study of antidepressant activity
Brain Res Protoc 7: 11-20 (2001)
- Garcia-Marquex C, Armario A
Chronic stress depresses exploratory activity and behavioural performance in the forced swimming test without altering ACTH response to a novel acute stressor
Physiol Behav 40: 33-38 (1987)
- Gerlai R, Henderson JF, Roder JC, Jia Z
Multiple behavioural anomalies in GluR2 mutant mice exhibiting enhanced LTP
Behav Brain Res 95:37-45 (1998)

Gillespie CF, Nemeroff CB
Hypercortisolemia and depression
Psychosom Med 67 S26–S28 (2005)

Gorka Z, Moryl E, Papp M
Effect of chronic mild stress on circadian rhythms in the locomotor activity in rats
Pharmacol Biochem Behav 54(1): 229–34 (1996)

Griebel G, Simiand J, Steinberg R, Jung M, Gully D, Roger P, Geslin M, Scatton B, Maffrand JP, Soubrie P
4-(2-Chloro-4-methoxy-5-methylphenyl)-N-[(1S)-2-cyclopropyl-1-(3-fluoro-4-methylphenyl)ethyl]5-methyl-N-(2-propynyl)-1,3-thiazol-2-amine hydrochloride (SSR125543A), apotent and selective corticoreophin-releasing factor(1) receptor antagonist. II. Characterization in rodent models of stress-related disorders.
Pharmacol Exp Ther 30: 333–345 (2002a)

Griebel G, Simiand J, Serradeil-Le Gal C, Wagnon J, Pascal M, Scatton B, Maffrand JP, and Soubrie P
Anxiolytic- and antidepressant-like effects of the non-peptide vasopressin V1b receptor antagonist, SSR149415, suggest an innovative approach for the treatment of stress-related disorders
Proc Natl Acad Sci USA 99: 6370–6375 (2002b)

Griffiths J, Shanks M, Anisman H
Strain-specific alterations in consumption of a palatable diet following repeated stressor exposure
Pharmacol Biochem Behav 42:219–227 (1992)

Griffiths J, Ravindran AV, Merali Z, Anisman H
Dysthymia: neurochemical and behavioral perspectives
Mol Psychiatry 5, 242–261 (2000)

Grippe AJ, Beltz TG, Johnson AK
Behavioral and cardiovascular changes in the chronic mild stress model of depression
Physiol Behav 78:703–710 (2003)

Grippe AJ, Sullivan NR, Damjanoska KJ, Crane JW, Carrasco GA, Shi J, Chen Z, Garcia F, Muma NA, Van de Kar LD
Chronic mild stress induces behavioral and physiological changes, and may alter serotonin 1A receptor function, in male and cycling female rats
Psychopharmacology 179: 769–780 (2005)

Grippe AJ, Beltz TG, Weiss RM, Johnson AK
The effects of chronic fluoxetine treatment on chronic mild stress-induced cardiovascular changes and anhedonia
Biol Psychiatry 15; 59(4): 309–16 (2006)

Gronli J, Murison R, Bjorvatn B, Sorensen E, Portas CM, Ursin R
Chronic mild stress affects sucrose intake and sleep in rats
Behav Brain Res 150: 139–147 (2004)

- Gronli, J, Murison R, Fiske E, Bjorvatn B, Sorensen E, Portas CM, Ursin R
Effects of chronic mild stress on sexual behavior, locomotor activity and consumption of sucrose and saccharine solutions
Physiol Behav 84 571-577 (2005)
- Gronli J, Fiske E, Murison R, Bjorvatn B, Sorensen E, Ursin R, Portas CM
Extracellular levels of serotonin and GABA in the hippocampus after chronic mild stress in rats. A microdialysis study in an animal model of depression
Behav Brain Res 181:42-51 (2007)
- Hagan JJ, Hatcher JP
Revised CMS model
Psychopharmacology (Berl) 134(4): 354-356 (1997)
- Haidkind R, Eller M, Harro M, Kask A, Rinken A, Orelund L, Harro J
Effects of partial locus coeruleus denervation and chronic mild stress on behaviour and monoamine neurochemistry in the rat.
Eur Neuropsychopharmacol 13: 19–28 (2003)
- Haile CN, GrandPre T, Kosten TA
Chronic unpredictable stress, but not chronic predictable stress, enhances the sensitivity to the behavioural effects of cocaine in rats
Psychopharmacology 154: 213–220 (2001)
- Haller J, Bakos N
Stress-induced social avoidance – A new model of stress-induced anxiety?
Physiol Behav 77:327-332 (2002)
- Haller J, Leveleki Cs, Baranyi J, Mikics É, Bakos N
Stress, social avoidance and anxiolytics: a potential model of stress-induced anxiety
Behav Pharmacol 14:439-446 (2003)
- Hammen C, Davila J, Brown G, Ellicott A, Gitlin M
Psychiatric history and stress: predictors of severity of unipolar depression
J Abnorm Psychol 101(1): 45-52 (1992)
- Hammen CL, Burge D, Daley SE, Davila J, Paley B, Rudolph KD
Interpersonal attachment cognitions and prediction of symptomatic responses to interpersonal stress
J Abnorm Psychol 104, 436–443 (1995)
- Harkin A, Houlihan DD, Kelly JP
Reduction in preference for saccharin by repeated unpredictable stress in mice and its prevention by imipramine
J Psychopharmacol 16 (2):115-123 (2002)
- Harris RB, Zhou J, Youngblood BD, Smagin GN, Ryan DH
Failure to change exploration or saccharin preference in rats exposed to chronic mild stress
Physiol Behav 63(1):91-100 (1997)

Harro J, Haidkind R, Harro M, Modiri AR, Gillberg PG, Pakkila R, Matto V, Oreland L
Chronic mild unpredictable stress after noradrenergic denervation: attenuation of behavioural and biochemical effects of DSP-4 treatment
Eur Neuropsychopharmacol 10:5-16 (1999)

Hatcher JP, Bell DJ, Hagan JJ
Chronic mild stress-induced reductions in saccharin intake depend upon nutritive state
J Psychopharmacol 10 (3) Suppl 105P (1996)

Hatcher J P, Bell DJ, Reed TJ, Hagan JJ
Chronic mild stress-induced reductions in saccharin intake depend upon feeding status
J Psychopharmacol 11(4): 331-8 (1997)

Hensler JG
Regulation of 5-HT_{1A} receptor function in brain following agonist or antidepressant administration
Life Sci 72(15): 1665-82 (2003)

Hogg S
A review of the validity and variability of the elevated plus-maze as an animal model of anxiety
Pharmacol Biochem Behav 53:271-275 (1996)

Holderbach R, Clark K, Moreau J-L, Bischofberger J, Normann C
Enhanced long-term synaptic depression in an animal model of depression
Biol Psychiatry 62(1):92-100 (2007)

Honig A, Bartlett JR, Bouras N, Bridges PK
Amino acid levels in depression: a preliminary investigation
J Psychiatr Res 22:159-64 (1988)

Jacobs BL, Praag H, Gage FH
Adult brain neurogenesis and psychiatry: a novel theory of depression
Mol Psychiatry 5(3): 262-9 (2000)

Jancsar SM, Leonard BE
Changes in neurotransmitter metabolism following olfactory bulbectomy in the rat
Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry 8:263-9. (1984)

Joels M, De Kloet ER
Coordinative mineralocorticoid and glucocorticoid receptor-mediated control of responses to serotonin in rat hippocampus
Neuroendocrinology 55:344-50 (1992)

Kalueff AV
Measuring grooming in stress and comfort
Proc Int Conf Measur Behav 3:148-9 (2000)

Kalueff AV, Tuohimaa P

The grooming analysis algorithm discriminates between different levels of anxiety in rats: potential utility for neurobehavioural stress research
J Neurosci Met 143, 2 169-177 (2005)

Kametani H

Analysis of age-related changes in stress-induced grooming in the rat
Ann NY Acad Sci 525:101–13. (1988)

Kasper S

Depression and anxiety – separate or continuum?
World J Biol Psychiatry 2:162-163 (2001)

Katz R, Roth K, Carroll B

Acute and chronic stress effects on open field activity in the rat: Implications for a model of depression
Neurosci Biobehav Rev 5:247-251 (1981)

Katz R, Hersch S

Amirptiline and scopolamine in an animal model of depression
Neurosci Biobehav Rev 5:265-271 (1981)

Katz R, Baldrighi G

A further parametric study of imipramine in an animal model of depression
Pharmacol Biochem Behav 16:965-968 (1982)

Kramer MS et al

Distinct mechanism for antidepressant activity by blockade of central substance P receptors
Science 281, 1640–1645 (1998)

Keller MB, Hanks DL

Anxiety symptom relief in depression treatment outcomes
J Clin Psychiatry 56(suppl 6):22—29 (1995)

Kendler KS, Thornton LM, Gardner CO

Stressful life events and previous episodes in the etiology of major depression in women: an evaluation of the ‘kindling’ hypothesis
Am J Psychiatry 157, 1243–1251 (2000)

Kessler RC, Nelson CB, McGonagle KA, Liu J, Swartz M, Blazer DG

Comorbidity of *DSM-III-R* major depressive disorder in the general population: results from the US National Comorbidity Survey
Br J Psychiatry 168 (suppl 30):17-30 (1996)

Kioukia-Fougia N, Antoniou K, Bekris S, Liapi C, Christofidis I, Papadopoulou-Daifoti Z
The effects of stress exposure on the hypothalamic-pituitary-adrenal axis, thymus, thyroid hormones and glucose levels

Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatr 26:823–830 (2002)

Kleiber M

Body size and metabolic rate

Physiol Rev 27:511-541 (1947)

Konkle ATM, Baker SL, Kentner AC, Barbagallo, LSM, Merali Z, Bielajew C

Evaluation of the effects of chronic mild stressors on hedonic and physiological responses: sex and strain compared

Brain Res 992: 227-238 (2003)

Kopp C, Vogel E, Rettori MC, Delagrangé P, Misslin R

The effects of melatonin on the behavioural disturbances induced by chronic mild stress in C3H/He mice

Behav Pharmacol 10(1): 73-83 (1999)

Kopp M

A reménytelenség szerepe a betegségek létrejöttében

Kórház 4/3: 4-9 (1977)

Kubera M, Maes M, Hoan V, Basta-Kain A, Roman A, Shani J

Prolonged desipramine treatment increases the production of interleukin-10, an anti-inflammatory cytokine, in C57BL/6 mice subjected to the chronic mild stress model of depression

J Affect Disord 63: 171-178 (2001)

Kurt M, Arik AC, Celik S

The effects of sertraline and fluoxetine on anxiety in the elevated plus-maze test in mice

J Basic Clin Physiol Pharmacol 11(2): 173-180 (2000)

Lazarus RS

From Psychological stress to the emotions: A history of changing outlooks

Annu Rev Psychol 44:1-21 (1993)

Leveleki C, Sziray N, Levay G, Barsvari B, Soproni K, Mikics E, Haller J

Pharmacological evaluation of the stress-induced social avoidance model of anxiety

Brain Res Bull 69(2): 153-60 (2006)

Lewy AJ, Sack RL, Miller LS, Hoban TM

Antidepressant and circadian phase-shifting effects of light

Science 123:352-354 (1987)

Lin D, Buijnzeel AW, Schmidt P, Markou A

Exposure to chronic mild stress alters thresholds for lateral hypothalamic stimulation reward and subsequent responsiveness to amphetamine

Neuroscience 114: 925-933 (2002)

Maier SF, Seligman MEP

Learned helplessness: theory and evidence

J Exp Psychol 105: 3-46 (1976)

- Malberg JE
Implications of adult hippocampal neurogenesis in antidepressant action
JPsychiatry Neurosci 29(3): 196-205 (2004)
- Malberg JE, Schechter LE
Increasing hippocampal neurogenesis: a novel mechanism for antidepressant drugs
Curr Pharm Des 11(2): 145-55 (2005)
- Manji HK, Drevets WC, Charney DS
The cellular neurobiology of depression
Nature Med 7: 541-547 (2001)
- Marona-Lewicka D, Nichols E
The effect of selective serotonin releasing agents in the chronic mild stress model of depression in rats
Soc Neurosci Abstr 22:181 (1996)
- Maslova LN, Bulygina VV, Markel AL
Chronic stress during prepubertal development: Immediate and long-lasting effects on arterial blood pressure and anxiety-related behavior
Psychoneuroendocrinology 27: 549-561 (2002)
- Matthews K, Forbes N, Reid IC
Sucrose consumption as an hedonic measure following chronic mild stress
Physiol Behav 57:241-248 (1995)
- Mayberg HS
Positron emission tomography imaging in depression: a neural systems perspective
Neuroimaging Clin N Am 13:805-815 (2003)
- McClung CA
Disruption of the *clock* gene in mice induces a manic-like state
Soc Neurosci Abstr 793.20 (2005)
- McEwen BS
The neurobiology of stress: from serendipity to clinical relevance
Brain Res 886(1-2): 172-189 (2000)
- McEwen BS
The Darwinian concept of stress: benefits of allostasis and costs of allostatic load and the trade-offs in health and disease
Neurosci Biobehav Rev 29, 3-38 (2005)
- McLean A, Rubinsztein JS, Robbins TW, Sahakian BJ
The effects of tyrosine depletion in normal healthy volunteers: implications for unipolar depression
Psychopharmacology (Berl) 171(3): 286-97 (2004)

Millan M, Brocco M, Papp M, Serres F, La Rochelle CD, Sharp T, Peglion JL, Dekeyne A S33005, a novel ligand at both serotonin and norepinephrine transporters: II. behavioral profile in comparison with venlafaxine, reboxetine, citalopram and clomipramine
J Pharmacol Exp Ther 298:581-591 (2001)

Mineur YS, Prasol DJ, Belzung C, Crusio WE
Agonistic behavior and unpredictable chronic mild stress in mice
Behav Genet 33(5):513-9 (2003)

Mineur YS, Belzung C, Crusio WE
Effects of unpredictable chronic mild stress on anxiety and depression-like behavior in mice
Behav Brain Res 175:43-50 (2006)

Molina VA, Heyser CJ, Spear LP
Chronic variable stress or chronic morphine facilitates immobility in a forced swim test: reversal by naloxone
Psychopharmacology 114:433-440 (1994)

Monteggia LM, Barrot M, Powell CM, Berton O, Galanis V, Gemelli T, Meuth S, Nagy A, Greene RW, Nestler EJ
Essential role of BDNF in adult hippocampal function
Proc Natl Acad Sci USA 101, 10827-10832 (2004)

Montgomery SA, Loft H, Sanchez C, Reines EH, Papp M
Escitalopram (S-enantiomer of citalopram): clinical efficacy and onset of action predicted from a rat model
Pharmacology and Toxicology 88:282-286 (2001)

Moreau JL, Jenck F, Martin JR, Mortas P, Haefely WE
Antidepressant treatment prevents chronic unpredictable mild stress- induced anhedonia as assessed by ventral tegmentum self-stimulation behavior in rats
Eur Neuropsychopharmacol 2(1): 43-9. (1992)

Moreau JL, Jenck F, Martin JR, Mortas P, Haefely WE
Effects of moclobemide, a new generation reversible MAO-A inhibitor, in a novel animal model of depression
Pharmacopsychiatry 26:30-33 (1993)

Moreau JL, Bourson A, Jenck F, Martin JR, Mortas P
Curative effects of the atypical antidepressant mianserin in the chronic mild stress-induced anhedonia model of depression
J Psychiatry Neurosci 19(1):51-6 (1994)

Móricz K, Gyetvai B, Bárdos Gy.
Morphological and functional changes after benzalkonium chloride treatment of the small intestinal Thiry-Vella loop in rats
Brain Res Bull 46(6): 519-528 (1998)

Moser PC, Tricklebank MD, Middlemiss DN, Mir AK, Hibert MF, Fozard JR
Characterization of MDL 73005EF as a 5-HT_{1A} selective ligand and its effects in animal
models of anxiety: Comparison with buspirone, 8-OH-DPAT and diazepam
Br J Pharmacol 99:343-349 (1990)

Moyaho A, Valencia J
Grooming and yawning trace adjustment to unfamiliar environments in laboratory Sprague–
Dawley rats (*Rattus norvegicus*)
J Comp Psychol 116:263–9 (2002)

Munoz C, Papp M
Alnespirone (S 20499), an agonist of 5-HT_{1A} receptors, and imipramine have similar activity
in a chronic mild stress model of depression
Pharmacol Biochem Behav 63(4): 647-53 (1999)

Murison R, Hansen AL
Reliability of the chronic mild stress paradigm: implications for research and animal welfare
Integr Physiol Behav Sci 36: 266–274 (2001)

Muscat R, Willner P
Suppression of sucrose drinking by chronic mild unpredictable stress: a methodological
analysis
Neurosci Biobehav Rev 16(4):507-17 (1992a)

Muscat R, Papp M, Willner P
Reversal of stress-induced anhedonia by the atypical antidepressants, fluoxetine and
maprotiline
Psychopharmacology 109:433-438 (1992b)

Nelson CJ, Jordan WP, Bohan RT
Daily fluoxetine administration impairs avoidance learning in the rat without altering sensory
thresholds
Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry 21(6): 1043-57 (1997)

Nestler EJ, Carlezon WA Jr.
The mesolimbic dopamine reward circuit in depression
Biol Psychiatry 59(12): 1151-9 (2006)

Nielsen CK, Arnt J, Sanchez C
Intracranial self-stimulation and sucrose intake differ as hedonic measures following chronic
mild stress: interstrain and inter-individual differences
Behav Brain Res 107: 21–33 (2000)

Ninan PT
The functional anatomy, neurochemistry and pharmacology of anxiety
J Clin Psychiatry 60(suppl 22):12-17 (1999)

Nogueira PJ, Ferreira HH, Antunes E, Tezeira NA
Chronic mild prenatal stress exacerbates the allergen-induced airway inflammation in rats.
Mediators Inflamm 8:119–122 (1999)

- Ordway GA
Pathophysiology of the locus coeruleus in suicide
Ann NY Acad Sci 836:233-252 (1997)
- Owens MJ, Nemeroff CB
Role of serotonin in the pathophysiology of depression: focus on the serotonin transporter
Clin Chem 40:288-295 (1994)
- Papp M, Moryl E, Willner P
Pharmacological validation of the chronic mild stress model of depression
Eur J Pharmacol 296(2): 129-36 (1996)
- Papp M, Nalepa I, Antkiewicz-Michaluk L, Sanchez C
Behavioural and biochemical studies of citalopram and WAY 100635 in rat chronic mild stress model
Pharmacol Biochem Behav 72: 465-474 (2002)
- Papp M, Gruca P, Boyer PA, Mocaer E
Effect of agomelatine in the chronic mild stress model of depression in the rat
Neuropsychopharmacology 28: 694-703 (2003)
- Pardon MC, Gerardin P, Joubert C, Perez-Diaz F, Cohen-Salmon C
Influence of prepartum chronic ultramild stress on maternal care behavior in mice
Biol Psychiatr 47: 858-863. (2000)
- Paul IA, Skolnick P
Glutamate and depression: clinical and preclinical studies
Ann NY Acad Sci 1003, 250-272 (2003)
- Pellow S, Chopin P, File SE, Briley M
Validation of open:closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat
J Neurosci Meth 14:149-167 (1985)
- Pellow S
Anxiolytic and anxiogenic drug effects in a novel test of anxiety: Are exploratory models of anxiety in rodents valid?
Meth Find Exp Clin Pharmacol 8:557-565 (1986)
- Pellow S, File SE
Anxiolytic and anxiogenic drug effects on exploratory activity in an elevated plus-maze: A novel test of anxiety in the rat
Pharmacol Biochem Behav 24:525-529 (1986)
- Phillips AG, Barr AM
Effects of chronic mild stress on motivation for sucrose: Mixed messages.
Psychopharmacology 134: 361-362 (1997)

- Pohl J, Olmstead MC, Wynne-Edwards KE, Harkness K, Menard JL
Repeated exposure to stress across the childhood-adolescent period alters rats' anxiety- and depression-like behaviors in adulthood: The importance of stressor type and gender.
Behav Neurosci 121(3): 462-74 (2007)
- Porsolt RD, Anton G, Blavet N, Jalfre M
Behavioural despair in rats: a new model sensitive to antidepressant treatments
Eur J Pharmacol 47:379-391 (1978)
- Pothion S, Bizot JC, Trovero F, Belzung C
Strain differences in sucrose preference and in consequences of unpredictable chronic mild stress
Behav Brain Res 155: 135-146 (2004)
- Pucilowski O, Overstreet DH, Rezvani AH, Janowsky DS
Chronic mild stress-induced anhedonia: greater effect in a genetic rat model of depression
Physiol Behav 54:1215-1220 (1993)
- Rajkowska G
Depression: what we can learn from postmortem studies
Neuroscientist 9:273-284 (2003)
- Reid I, Forbes N, Stewart C, Matthews K
Chronic mild stress and depressive disorder: a useful new model?
Psychopharmacology 134(4): 365-367 (1997)
- Ressler KJ, Nemeroff CB
Role of serotonergic and noradrenergic systems in the pathophysiology of depression and anxiety disorders
Depress Anxiety 12 (suppl 1):2-19 (2000)
- Rex A, Voigt JP, Gustedt C, Beckett S, Fink H
Anxiolytic-like profile in Wistar, but not Sprague-Dawley rats in the social interaction test
Psychopharmacology 177(1-2):23-24 (2004)
- Risch SC, Nemeroff CB
Neurochemical alterations of serotonergic neuronal systems in depression
J Clin Psychiatry 53 (suppl 10):3-7 (1992)
- Rudolph KD, Hammen C, Burge D, Lindberg N, Herzberg D, Daley SE
Toward an interpersonal life-stress model of depression: the developmental context of stress generation
Dev Psychopathol 12: 215-234 (2000)
- Ryckmans T, Balancon L, Berton O, Genicot C, Lamberty Y, Lallemand B, Pasau P, Pirlot N, Quere L, Talaga P
First dual NK1 antagonist/serotonin reuptake inhibitors: synthesis and SAR of a new class of potential antidepressants
Bioorg Med Chem Lett 12: 261-264 (2002)

Sachs BD

The development of grooming and its expression in adult animals
Ann NY Acad Sci 525:1–17 (1988)

Sack RL, Lewy AJ, White DM, Singer CM, Fireman MJ, Vandiver R

Morning vs evening light therapy for winter depression: evidence that the therapeutic effects of light are mediated by circadian phase shifting
Arch Gen Psychiatry 47:343–351 (1990)

Sampson D, Muscat R, Willner P

Reversal of antidepressant action by dopamine antagonists in an animal model of depression
Psychopharmacology 104: 491–495 (1991)

Sanchez C, Papp M

The selective σ_2 ligand Lu 28-179 has an antidepressant-like profile in the rat chronic mild stress model of depression
Behav Pharmacol 11:117–124 (2000)

Sapolsky RM

Stress hormones: good and bad
Neurobiol Dis 7, 540–542 (2000)

Scates AC, Doraiswamy PM

Reboxetine: a selective norepinephrine reuptake inhibitor for the treatment of depression
Ann Pharmacother 34:1302–1312 (2000)

Schildkraut JJ

The catecholamine hypothesis of affective disorders: a review of supporting evidence
Am J Psychiatry 122(5): 509–22 (1965)

Schneier FR, Blanco C, Antia SX, Liebowitz MR

The social anxiety spectrum
Psychiatr Clin North Am 25(4):757–74 (2002)

Schulz D, Buddenberg T, Huston JP

Extinction-induced "despair" in the water maze, exploratory behavior and fear: effects of chronic antidepressant treatment
Neurobiol Learn Mem 87(4): 624–34 (2007)

Semont A, Fache M, Ouafik L, Hery M, Faudon M, Hery F

Effect of serotonin inhibition on glucocorticoid and mineralocorticoid expression in various brain structures
Neuroendocrinology 69:121–8 (1999)

Sergeyev V, Fetisov S, Mathé AA, Jimenez PA, Bartfai T, Mortas P, Gaudet L, Moreau JL, Hökfelt T

Neuropeptide expression in rats exposed to chronic mild stress
Psychopharmacology 178: 115–124 (2005)

- Setem J, Pinheiro AP, Motta VA, Morato S, Cruz APM
Ethopharmacological analysis of 5-HT ligands on the rat elevated plus-maze
Pharmacol Biochem Behav 62:515-521 (1999)
- Sherman AD, Petty F
Additivity of neurochemical changes in learned helplessness and imipramine
Behav Neural Biol 35:344–53 (1982)
- Silberman DM, Wald M, Genaro AM
Effects of chronic mild stress on lymphocyte proliferative response: participation of serum thyroid hormones and corticosterone
Int Immunopharmacol 2: 487–497 (2002)
- Sills TL, Vaccarino FJ
Individual differences in sugar intake predict the locomotor response to acute and repeated amphetamine administration
Psychopharmacology 116:1-8 (1994)
- Silva MT, Alves CR, Santarem EM
Anxiogenic-like effect of acute and chronic fluoxetine on rats tested on the elevated plus-maze.
Braz J Med Biol Res 32(3): 333-9 (1999)
- Silva RC, Brandao ML
Acute and chronic effects of gepirone and fluoxetine in rats tested in the elevated plus-maze: an ethological analysis
Pharmacol Biochem Behav 65(2): 209-16 (2000)
- Slattery DA, Hudson AL, Nutt DJ
Invited review: the evolution of antidepressant mechanisms
Fundam Clin Pharmacol 18(1): 1-21 (2004)
- Sluzewska A, Szczawinska K
Lithium potentiation of antidepressants in chronic mild stress model of depression in rats
Behav Pharmacol 7 [Suppl 1]:86 (1996)
- Smadja C, Ruiz F, Turcaud S, Roques BP, Maldonado R
Effects induced by endogenous and exogenous opioids in different animal models of depression: modulation by the CCK system
Analgesia 1:742-745 (1995)
- Solomon DA, Keller MB, Leon AC, Solomon DA, Keller MB, Leon AC, Mueller TI, Lavori PW, Shea MT, Coryell W, Warshaw M, Turvey C, Maser JD, Endicott J
Multiple recurrences of major depressive disorder
Am J Psychiatry 157, 229–233 (2000)
- Song L, Che W, Min-Wei W, Murakami Y, Matsumoto K
Impairment of the spatial learning and memory induced by learned helplessness and chronic mild stress
Pharmacol Biochem Behav 83(2): 186-93 (2006)

Spruijt BM, van Hooff JA, Gispen WH
Ethology and neurobiology of grooming behavior
Physiol Rev 72:825–52 (1992)

Statham A
Large scale study of the replicability of the chronic mild stress model of depression
J Psychopharmacol 11(suppl):A41. (1997)

Strekalova T, Spanagel R, Bartsch D, Henn F, Gass P
Stress-induced anhedonia in mice is associated deficits in forced swimming and exploration
Neuropsychopharmacology 29: 2007–2017 (2004)

Swanson CJ, Bures M, Johnson MP, Linden AM, Monn JA, Schoepp DD
Metabotropic glutamate receptors as novel targets for anxiety and stress disorders
Nature Rev Drug Discov 4, 131–144 (2005)

Tannenbaum B, Tannenbaum GS, Sudom K, Anisman H
Neurochemical and behavioural alterations elicited by a chronic intermittent stressor regimen:
implications for allostatic load
Brain Res 953: 82–92 (2002)

Ushijima K, Morikawa T, To H, Higuchi S, Ohdo S
Chronobiological disturbances with hyperthermia and hypercortisolism induced by chronic
mild stress in rats
Behav Brain Res 173(2):326-30 (2006)

Valverde O, Smadja C, Roques BP, Maldonado R
The attenuation of morphine-conditioned place preference following chronic mild stress is
reversed by a CCKB receptor antagonist
Psychopharmacology 131:79-85 (1997)

Van Erp AM, Kruk MR, Willekens-Bramer DC, Fermont PC, Nijssen MJ
PVH lesions do not inhibit stressor-induced grooming in the rat
Physiol Behav 57:887–92 (1995)

Wei Q, Lu XY, Liu L, Schafer G, Shieh KR, Burke S, Robinson TE, Watson SJ, Seasholtz
AF, Akil H
Glucocorticoid receptor overexpression in forebrain: a mouse model of increased emotional
liability
Proc Natl Acad Sci USA 101, 11851–11856 (2004)

Westlund Tam L, Parry BL
Does estrogen enhance the antidepressant effects of fluoxetine?
J Affect Disord 77(1): 87-92 (2003)

Willner P, Towell A, Sampson D, Sophokleous S, Muscat R
Reduction of sucrose preference by chronic unpredictable mild stress, and its restoration by a
tricyclic antidepressant
Psychopharmacology 93(3): 358-64 (1987)

Willner P, Muscat R, Papp M

Chronic mild stress-induced anhedonia: a realistic animal model of depression

Neurosci Biobehav Rev 16(4): 525-34 (1992)

Willner P

Validity, reliability and utility of the chronic mild stress model of depression: a 10-year review and evaluation

Psychopharmacology 134(4): 319-29 (1997)

Willner P

Chronic mild stress (CMS) revisited: consistency and behavioural-neurobiological concordance in the effects of CMS

Neuropsychobiology 52(2): 90-110 (2005)

Winograd-Gurvich C, Fitzgerald PB, Georgiou-Karistianis N, Bradshaw JL, White OB

Negative symptoms: A review of schizophrenia, melancholic depression and Parkinson's disease

Brain Res Bull 70(4-6): 312-21 (2006)

Wong ML, Licinio J

Research and treatment approaches to depression

Nature Revs 2:343-351 (2001)

Yalcin I, Aksu F, Belzung C

Effects of desipramine and tramadol in a chronic mild stress model in mice are altered by yohimbine but not by pindolol

Eur J Pharmacol 514:165-174 (2005)

Yu J, Liu Q, Wang YQ, Wang J, Li XY, Cao XD, Wu GC

Electroacupuncture combined with clomipramine enhances antidepressant effect in rodents

Neurosci Lett 421(1): 5-9 (2007)

Zacharko RM, Bowers WJ, Kokkindis L, Anisman H

Region specific reductions of intracranial self-stimulation after uncontrollable stress: possible effects on reward processes

Behav Brain Res 9:129-141 (1983)

Zurita A, Martijena I, Cuadra G, Brandao ML, Molina V

Early exposure to chronic variable stress facilitates the occurrence of anhedonia and enhanced emotional reactions to novel stressors: reversal by naltrexone pretreatment

Behav Brain Res 117:163-171 (2000)

Saját publikációk

A dolgozat témaköréből

Kompagne H, Bárdos Gy, Szénási G, Gacsályi I, Hársing GL, Lévy Gy
Chronic mild stress generates clear depressive but ambiguous anxiety-like behaviour in rats
Behav Brain Res, in press, DOI: 10.1016/j.bbr.2008.06.008

Bárdos G, Móricz K, Haraszi H
Discomfort: not pain but still unpleasant feelings from the gut
Acta Biol Hung 53: 423-433 (2002)

Közlemények más témakörből

Nagy E, Compagne H, Orvos H, Pal A, Molnar P, Janszky I, Loveland KA, Bardos G
Index finger movement imitation by human neonates: motivation, learning and left-hand preference
Pediatr Res 58(4): 749-53 (2005)

Kapus G, Gacsályi I, Vegh M, Kompagne H, Hegedüs E, Leveleki Cs, Hársing L, Barkóczy J, Bilkei-Gorzo A, Lévy G
Antagonism of AMPA receptors produces anxiolytic-like behavior in rodents: effects of GYKI 52466 and its novel analogues
Psychopharmacology, 198(2): 231-241 (2008)

Volk B, Barkóczy J, Hegedüs E, Udvari Sz, Gacsályi I, Mezei T, Pallagi K, Kompagne H, Lévy G, Egyed A, Hársing L, Spedding M, Simig Gy
Phenylpiperazinyl-butyl oxindoles as selective 5-HT₇ receptor antagonists
J Med Chem, 51(8): 2522-32 (2008)